Pest Management Regulatory Agency
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire

Regulatory Note

REG2000-13

Neemix 4.5®

The naturally occurring botanical insecticide Neemix 4.5®, which contains the active ingredient azadirachtin for the control of sawflies in forestry in Canada, has been granted Section 17 temporary registration.

This regulatory note provides a summary of data reviewed and the rationale for the regulatory decision concerning this product.

(publié aussi en français)

October 16, 2000

This document is published by the Submission Management and Information Division, Pest Management Regulatory Agency. For further information, please contact:

Publications Coordinator
Pest Management Regulatory Agency
Health Canada
2250 Riverside Drive
A.L. 6606D1
Ottawa, Ontario
K1A 0K9

Internet: **pmra_publications@hc-sc.gc.ca**
www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/
Information Service:
1-800-267-6315 or (613) 736-3799
Facsimile: (613) 736-3798

Health Canada Santé Canada

Canada

102-06618/

Foreword

Health Canada's Pest Management Regulatory Agency (PMRA) has issued a temporary registration for Neemix 4.5®, a naturally occurring botanical insecticide developed by Thermotrilogy Corporation. Neemix 4.5® contains the active ingredient azadirachtin, which is effective against sawflies in forestry.

Thermotrilogy Corporation will be carrying out additional chemistry, toxicological, and efficacy studies as a condition of this temporary registration. Following the review of this new data, the PMRA will publish a proposed registration decision document and request comments from interested parties before proceeding with a final regulatory decision.

Table of Contents

1.0 The active substances, its properties, uses, proposed classification, and labelling 1
- 1.1 Identity of the active substance and preparation containing it 1
- 1.2 Physical and chemical properties of active substance 2
- 1.3 Details of uses 3
- 1.4 Classification and labelling 4
  - 1.4.1 Azatin 15% Technical 4
  - 1.4.2 Neemix 4.5® end-use product 4

2.0 Methods of analysis 4
- 2.1 Methods for analysis of the active substance as manufactured 4
- 2.2 Method for formulation analysis 5

3.0 Impact on human and animal health 5
- 3.1 Integrated toxicological summary 5
- 3.2 Determination of acceptable daily intake 7
- 3.3 Acute reference dose 7
- 3.4 Toxicology end-point selection for occupational and bystander risk assessment 7
- 3.5 Impact on human and animal health arising from exposure to Neemix 4.5® 8
  - 3.5.1 Operator exposure assessment 8
  - 3.5.2 Bystanders 10
  - 3.5.3 Workers 10

4.0 Residues 10
- 4.1 Residue summary 10

5.0 Fate and behaviour in the environment 10
- 5.1 Fate and behaviour in soil 10
  - 5.1.1 Soil transformation 10
  - 5.1.2 Mobility 10
- 5.2 Expected environmental concentration in soil 11
- 5.3 Fate and behaviour in water 11
  - 5.3.1 Aquatic transformation 11
  - 5.3.2 Expected environmental concentrations in water 11
- 5.4 Fate and behaviour in air 11

6.0 Effects on nontarget species 11
- 6.1 Effects on terrestrial nontarget species 11
  - 6.1.1 Terrestrial organisms 11
  - 6.1.2 Aquatic organisms 11
- 6.2 Environmental risk assessment 12
- 6.3 Environmental risk mitigation 12

7.0 Value 12
7.1 Effectiveness 12
7.2 Alternatives 14

8.0 Toxic substances management policy considerations 14

9.0 Overall conclusions and regulatory decision 14
9.1 Assessments 14
9.1.1 Health risk assessment 14
9.1.2 Environmental risk assessment 15
9.1.3 Value assessment 16
9.2 Label amendments and recommendations 16
9.3 Regulatory decision 17

List of abbreviations 19

Appendix I Toxicology 21
Table 1 Neem Concentrate TGAI 21
Table 2 Azatin 15% Technical and Neemix 4.5® 23

Appendix II Environmental Assessment 25
Table 1 Summary of terrestrial fate and transformation data 25
Table 2 Summary of aquatic fate and transformation data 26
Table 3 Summary of toxicity of azadirachtin for terrestrial organisms 27
Table 4 Summary of toxicity of azadirachtin to aquatic organisms 28
Table 5 Summary of risks to terrestrial organisms 28
Table 6 Summary of Tier I risk assessment to aquatic organisms 28

1.0 The active substances, its properties, uses, proposed classification, and labelling

1.1 Identity of the active substance and preparation containing it

Active substance: Azadirachtin

Function: Insecticide

Chemical name (IUPAC): No IUPAC name has been assigned

Chemical name (CAS): dimethyl [2aR-[2*a*α,3β,4β(1*a*R*,2*S**,3*aS**,6*aS**,7*S**,7*aS**), 4*a*β,5α,7*aS**,=8β(E),10β,10*a*α,10*b*β]]-10-(acetyloxy) octahydro-3,5-dihydroxy-4-methyl=8-[(2-methyl-1- oxo-2-butenyl)oxy]-4-[(3*a*,6*a*,7,7*a*)-tetrahydro-6*a*-hydroxy= 7*a*-methyl-2,7-methanofuro[2,3-*b*]oxireno[*e*]oxepin-1*a*(2H)-yl]-1H,7H=naphthol[1,8-*bc*:4,4*a*-*c'*]difuran-5, 10*a*(8H)-dicarboxylate

CAS number:

Azadirachtin A	11141-17-6
Azadirachtin B	95507-01-0

Nominal purity of active: 15%

Identity of relevant impurities of toxicological, environmental, or other significance:

A small amount of aflatoxins may be present in the neem seeds that are the starting material in the manufacture of azadirachtin. The company has established standard operating procedures to minimize the amount of aflatoxins present in its source seeds. Implementing these procedures will insure that the aflatoxin level in the technical product will be a maximum of 80 ppb. Each lot of a technical material will be analysed for the aflatoxin level to insure that it is 80 ppb or less.

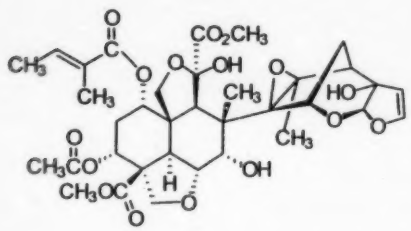
Toxic Substances Management Policy (TSMP) Track 1 substances as identified in Appendix II of Regulatory Directive DIR99-03 *The Pest Management Regulatory Agency's Strategy for Implementing the Toxic Substances Management Policy* are not expected to be present in the product.

Molecular formula: $C_{35}H_{44}O_{16}$ (for Azadirachtin A)
$C_{33}H_{42}O_{14}$ (for Azadirachtin B)

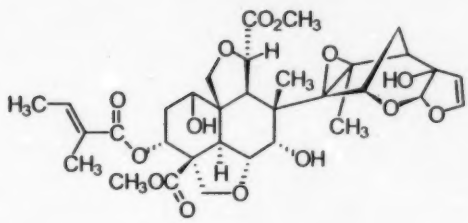
Molecular mass: 720.7 (for Azadirachtin A)
662.7 (for Azadirachtin B)

Structural formula:

Azadirachtin A



Azadirachtin B



1.2 Physical and chemical properties of active substance

Technical product: Azadirachtin

Property	Result
Colour and physical state	Light mustard yellow amorphous solid
Odour	Sulfur
Melting point or range	85–105°C
Boiling point or range	Not applicable
Density	1.2 g/mL at 24°C
Vapour pressure	2.14 mm Hg at 20°C
UV and visible spectrum at 26°C	λ_{max} = 220 nm
Water solubility (mg/mL)	2.8×10^{-5} at 10°C 5.0×10^{-5} at 25°C 3.0×10^{-4} at 50°C
Solubility in organic solvents	
acetone	2.0 mg/mL at 10°C
	6.25 mg/mL at 25°C
	9.5 mg/mL at 50°C
ethanol	0.05 mg/mL at 10°C
	0.125 mg/mL at 25°C
	3.75 mg/mL at 50°C
methanol	0.01 mg/mL at 10°C
	0.10 mg/mL at 25°C
	4.25 mg/mL at 50°C
hexane	<200 ppm at 25°C
n-Octanol–water partition coefficient (K_{ow})	12.3 ± 0.2
log K_{ow}	1.09

Property	Result
Dissociation constant	Not applicable, no dissociable moieties
Stability (temperature, metals)	Expected to be stable under conditions of normal use

End-use product: Neemix 4.5®

Property	Result
Colour	Dark reddish brown
Odour	Banana–mint
Physical state	Liquid
Formulation type	Emulsifiable concentrate
Guarantee	4.5%
Container material and description	Plastic 0.5, 1.0, 5.0, and 10.0 L
Density	0.91 g/mL
pH	5.2
Storage stability	Stable when stored for 12 months at room temperature in commercial packaging
Surfactants	Atlox AL-1447

1.3 Details of uses

Neemix 4.5® is intended to be used by air against three sawfly species that are currently causing large scale damage to Canadian forests. It is recommended for control of the balsam fir sawfly (BFS) *Neodiprion abietis* (Harr.), the yellow-headed spruce sawfly (YHSS) *Pikonema alaskensis*, and the pine false webworm (PFW) *Acantholyda erythrocephala* by applying one application of between 20 and 50 g a.i./ha on early instars of larvae.

Balsam fir sawfly is a native species with wide distribution in Canada and the United States. BFS is an increasing problem in balsam fir stands in eastern Canada, most notably in western Newfoundland (for the year 2000, moderate to severe populations are expected in 40 000 ha of forest) and the Cape Breton and Eastern Shore regions of Nova Scotia. Its preferred host is balsam fir, but it may also feed on spruce. The larval stage of BFS feeds on foliage one-year-old and older. One year of feeding damage can cause extensive growth reduction for several years afterwards, making the weakened trees more susceptible to attack by other organisms. Successive years of defoliation can lead to tree mortality.

Yellow-headed spruce sawfly is a serious pest of plantation and open grown spruce in many regions of North America. In Canada, the problem is particularly pronounced in the Bay of Fundy area and is also a concern in Quebec and Ontario. The young larvae feed only on the new or current year's foliage, but when almost full-grown they will feed on older needles. Persistent infestations will hinder growth development and greatly affect tree appearance, especially of young trees. Trees may even be killed outright after two years or more of severe defoliation, especially when the sawfly outbreak coincides with drought periods.

Pine false webworm is a web-spinning sawfly native to northern Europe and feeds on pines. Initially an occasional pest of young red pine plantations in Ontario, it is now attacking high value, semi-mature and mature red pine plantations, and tree mortality is occurring . It also has become a significant pest of large white pine in Ontario and New York. In Ontario, it is now threatening $40 million worth of red pine plantations.

1.4 Classification and labelling

1.4.1 Azatin 15% Technical

The technical active Azatin 15% Technical is of low acute toxicity via oral, dermal and inhalation routes of exposure, non-irritating to the skin, minimally irritating to the eyes, and not a dermal sensitizer. None of the formulants in Azatin 15% Technical are on the EPA list of Inerts of Toxicological Concern (list 1) or List of Inerts for Priority Testing (list 2).

1.4.2 Neemix 4.5® end-use product

The formulation Neemix 4.5® is of low acute toxicity via oral, dermal, and inhalation routes of exposure, is moderately irritating to eyes, is minimally irritating to skin, and is not a dermal sensitizer. None of the formulants in Neemix 4.5® are on the Environmental Protection Agency (EPA) list of Inerts of Toxicological Concern (list 1) or List of Inerts for Priority Testing (list 2).

2.0 Methods of analysis

2.1 Methods for analysis of the active substance as manufactured

The high-performance liquid chromatography (HPLC) method with UV detection was used for the analysis of the active ingredient and the impurities. The linear range of the detector was sufficiently wide, and the method precision and accuracy were acceptable. The method provided was assessed and fully validated for the active ingredient.

The method linearity and specificity for the impurities was also confirmed. The information on precision and accuracy for the impurities was not provided. However, because of the biological and complex nature of the impurities, the requirement for accuracy and precision of the method has been waived.

2.2 Method for formulation analysis

An HPLC method with UV detection was used for the determination of the active ingredient in this product. The method has satisfactory specificity, linearity, precision, and accuracy and is suitable for use as an enforcement method.

3.0 Impact on human and animal health

3.1 Integrated toxicological summary

Azadirachtin (insect growth regulator) is the active compound in the technical active ingredients Neem Concentrate TGAI and Azatin 15% Technical, both of which contain a neem seed extract from the neem tree *Azadirachta indica* that grows in sections of India, Africa, Indonesia, and South America. Two data packages were submitted by the same registrant to support different uses. Because of deficiencies in both packages and the fact that the source of the two technical actives was the same (the hydrophilic moiety), the PMRA combined the available data from both packages for a more comprehensive review that allowed the establishment of no observed adverse effect levels (NOAELs) and conclusions regarding the potential for adverse health effects.

Neem Concentrate TGAI is of low acute toxicity via the oral and dermal routes of exposure, slightly toxic via the inhalation route of exposure, mildly irritating to eyes, slightly irritating to skin, and not a dermal sensitizer.

Azatin 15% Technical is of low acute toxicity via the oral, dermal, and inhalation routes of exposure, minimally irritating to eyes, non-irritating to skin, and not a dermal sensitizer. The formulation Neemix 4.5® is considered to be of low acute toxicity by the oral, dermal, and inhalation routes of exposure, moderately irritating to eyes, mildly irritating to skin, and not a dermal sensitizer.

Two short-term studies conducted in rats illustrated effects on haematological parameters (decreased mean corpuscular volume(MCV) and mean corpuscular haemoglobin (MCH), suggesting a slight hypochromic and microcytic anemia) at levels greater than 632 mg/kg bw/d. Leukocyte, lymphocyte, monocyte, and reticulocyte numbers were affected at the limit dose of 1000 mg/kg bw/d. The principal target organ was the liver, with increased liver weights and altered clinical chemistry parameters. At the limit dose of 1000 mg/kg bw/d, bile duct proliferation was also observed. The compound also caused effects on kidney, heart, adrenal gland, and ovary weights; however, no histopathological correlates were found for these organs. Gender sensitivity was not clearly evident in rats: the male was more sensitive showing more severe proliferation of the bile ducts in the portal areas of the liver, whereas females demonstrated increased liver weights and increased gamma glutamyl transpeptidase levels at a lower dose level. The latter incidence may indicate possible hepatobiliary lesions. In the absence of chronic toxicity and carcinogenicity studies, the potential for the compound to cause toxicity following long-term exposure cannot be ruled out.

Although a decrease in adrenal and (or) ovary weights was noted in rats following 90-day dietary exposure, no histopathological correlates were found. However, based on the endocrine mode of action in insects and the absence of a reproductive toxicity study, the potential for the compound to cause endocrine effects cannot be ruled out. No neurological signs of toxicity were observed following dietary or gavage exposure at the limit dose of 1000 mg/kg bw/d.

Neem Concentrate TGAI was not mutagenic in bacterial and mammalian species in vitro and was found to be negative for inducing structural chromosomal aberrations in mice in vivo. Azatin 15% Technical was also not mutagenic in bacterial species. A developmental toxicity study with Neem Concentrate TGAI in rats demonstrated no toxic effects on the dams and no evidence was found of embryo or fetal toxicity or teratogenicity up to the limit dose of 1000 mg/kg bw/d.

Immunotoxicity was demonstrated in a study of Neem Concentrate TGAI treatment via oral gavage in female mice. In this study, body weight decreased by ≥30% and food consumption was significantly reduced. Severe stress and malnutrition were related to an indirect immunomodulating effect. Although the dose selection may not be appropriate, the observed effects on spleen weight combined with the effects on plaque-forming cell (PFC) assay and the natural killer (NK) cell function confirm that Neem Concentrate TGAI can affect immune responses and that the effects may have clinical significance. None of these effects were observed when mice were dosed with Azatin 15% Technical via the dietary route, up to the highest dose of 1100 mg/kg bw/d. However, Azatin 15% Technical via dietary exposure caused suppression of cytotoxic T-lymphocyte function. In this study, the viability of the splenocytes was not reported, so it is possible that the results seen in the cytotoxic T-lymphocyte function test are associated with decreased viability of splenocytes and are not related to dosing.

Although limited, both data sets indicate potential immunotoxicity effects. Adequate immunotoxicity testing (Tier I) should be performed for Azatin 15% Technical and Neem Concentrate TGAI to support both the forestry use and any uses with potential for subchronic and chronic exposure. The results of Tier I testing will determine a need for Tier II immunotoxicity data.

For the short-term occupational exposure proposed for this forestry application, the lowest observed adverse effect level (LOAEL) based on effects on cytotoxic T-lymphocytes (500 ppm; 112 mg Azatin 15% Technical/kg bw/d) will be used. Other safety factors will be added to full personal protective equipment for workers to ensure that worker exposure is minimized. A full toxicology data package is required before any expansion of forestry use or other uses involving subchronic and chronic exposure is considered for this product. This is based on the following:

(i) evidence suggesting potential immunosuppression and lack of chronic data in two species to rule out the effect of immunosuppression on tumour formation;

(ii) concern for potential adverse effects on endocrine system; compound has an endocrine mode of action in insects; 90-day rat dietary study demonstrated increases in adrenal and (or) ovary weights; no reproduction study available; and

(iii) literature references indicating that neem oil (hydrophobic fraction of neem seed extract) has been associated with adverse reproductive effects (spermicidal activity, implantation failure; neem oil use as topical contraceptive in humans).

3.2 Determination of acceptable daily intake

Not being established.

3.3 Acute reference dose

Not being established.

3.4 Toxicology end-point selection for occupational and bystander risk assessment

Azatin 15% Technical is of low acute toxicity via oral, dermal, and inhalation routes of exposure, minimally irritating to eyes, non-irritating to skin, and not a dermal sensitizer. The formulation Neemix 4.5® is considered to be of low acute toxicity by the oral, dermal, and inhalation routes of exposure, moderately irritating to eyes, mildly irritating to skin, and not a dermal sensitizer.

For the short-term exposure proposed for this forestry application, the 30-day dietary mouse immunotoxicity study using technical Azatin 15% Technical was considered the most relevant study for toxicity end-point selection. Observed immunotoxicity in this study was considered to be the most sensitive end point in the data package. The LOAEL in this study was 112 mg/kg bw/d based on effects on cytotoxic T-lymphocyte function. A no observed adverse effect level (NOAEL) was not established for this study. The following are the main points considered in this decision:

- The anticipated exposure for mixers, loaders, and pilots will be of intermediate duration (i.e., four to six weeks) and intermittent throughout this period (e.g., four hours a day, several days per week).

- The predominant route of exposure is dermal. Inhalation is a minor route of exposure. A comparison of toxicity following dosing by oral, dermal, and inhalation routes (acute toxicity studies) did not indicate any increased route-specific systemic toxicity. Therefore, in the absence of any short-term toxicity study on the dermal or inhalation route of exposure, a toxicology study by the dietary route is considered appropriate for occupational risk assessment.

- Azatin 15% Technical and Neemix 4.5® were of low acute toxicity via the oral route, and no significant systemic toxicity was observed at a limit dose of 5000 mg/kg bw. In a short-term (90-day) dietary toxicity study in rats, the NOAEL was 161.4 and 32.1 mg/kg bw/d for males and females, respectively,

based on observed altered haematological and clinical chemistry parameters. Changes in organ weights were observed at the higher dose level of 632.4 and 161.4 mg/kg bw/d for males and females, respectively; however, no histopathological correlates were observed for these organs.

- Gender sensitivity was not clearly evident in rats: the males had a more severe proliferation of the bile ducts in the portal areas of the liver; the females had an increase in liver weight and gamma glutamyl transpeptidase levels at a lower dose level than the males.

- In rats the test compounds were not mutagenic or clastogenic in vivo and was not teratogenic. However, immunotoxicity studies indicate that neem extract may have immunotoxic potential. Based on the observed suppression of cytotoxic T-lymphocyte function, the LOAEL for immunotoxicity for Azatin 15% Technical is 112 mg/kg bw/d.

- Although a decrease in adrenal and (or) ovary weights was noted in rats following a 90-day dietary exposure, no histopathological correlates were found. However, based on its endocrine mode of action in insects and the absence of a reproductive toxicity study, the potential for this compound to cause endocrine effects cannot be ruled out. No neurological signs of toxicity were observed following dietary as well as gavage exposure at the limit dose.

An additional 10-fold safety factor beyond the standard 100-fold is recommended to take into account use of a LOAEL for potential immunotoxicity and use of a Tier I data package.

3.5 Impact on human and animal health arising from exposure to Neemix 4.5®

3.5.1 Operator exposure assessment

Neemix 4.5® is an emulsifiable concentrate containing 40.4 g azadirachtin/L or 273 g total neem solids (including azadirachtin)/L. It is proposed for commercial, restricted registration for forest and woodlands management. The product would be applied once from June to early August by aerial application at a rate of 52.8 g azadirachtin/ha or 357 g total neem solids/ha.

Since Neemix 4.5® is derived from neem seeds, it may be contaminated with aflatoxins up to a maximum concentration of 24 ppb.

Neemix 4.5® would initially be used in Newfoundland, Nova Scotia, New Brunswick, and Ontario. Although in Newfoundland the degree of infestation is approximately 40 000 ha, the area that would be treated would be 4000–5000 ha. Treatment would take place over four to six weeks. On average pilots can treat 400 ha/day. Assuming the maximum application rate is used, 142.8 kg of total neem solids would be handled by mixers, loaders, and pilots in one day.

Mixer, loader, and pilot (applicator) exposure was estimated using the Pesticide Handlers Exposure Database version 1.1 (PHED 1.1). PHED is a compilation of generic mixer, loader, and applicator passive dosimetry data with associated software that facilitates the generation of scenario-specific exposure estimates. The PHED estimates meet criteria for data quality, specificity, and quantity outlined under the North American Free Trade Agreement Technical Working Group on Pesticides. Exposure was predominately dermal, with inhalation accounting for a minor component of overall exposure. Exposure estimates were based on a the assumption that dermal absorption is equivalent to oral absorption.

To estimate exposure for each use scenario, appropriate subsets of A and B grade data were created from the mixer, loader, and applicator database files of PHED. All data were normalized for each kilogram of active ingredient handled. Exposure estimates are presented on the basis of the best-fit measure of central tendency, i.e., summing the measure of central tendency for each body part that is most appropriate to the distribution of data for that body part. The exposure estimates were based on one layer of clothing and gloves in PHED, with the exception of no gloves during ground application. A protection factor of 90% for chemical-resistant coveralls to be worn during mixing and loading was incorporated into the estimates.

The following exposure estimates and margins of exposure were derived for mixers, loaders, and pilots:

	Exposure (mg/kg bw/d)[a]	**Margin of exposure based on LOAEL of 112 mg/kg bw/d [b]**
Mixer and loader	0.0728	1540
Pilot	0.0213	5260

NOTE: Estimates are based on mixers and loaders wearing chemical-resistant coveralls over one layer of clothing and gloves and pilots wearing one layer of clothing and no gloves.

[a] Based on a 70-kg operator and typical North American use patterns of 400 ha/day for custom mixers, loaders, and pilots. Dermal absorption was assumed to be equivalent to oral absorption.

[b] Based on mouse immunotoxicity study.

These margins of exposure are acceptable.

Potential exposure estimates to aflatoxins were also derived using PHED based on the assumption that aflatoxins have identical transfer, deposition, and penetration characteristics as the active ingredient. Aflatoxin exposure for mixers and loaders wearing the same personal protective equipment described above was 0.0056 ng/kg bw/d. This exposure is much lower than aflatoxin intake of 1–2 ng/kg bw/d in Canadian children 1–11 years old (the age group with the highest exposure potential) from the consumption of peanuts or peanut butter. This estimate is based on results from the Health Protection Branch monitoring of aflatoxin residues in nuts and nut products (1985–1987).

3.5.2 Bystanders

Bystander exposure is expected to be low, with the provincial regulatory authorities implementing procedures such as public service announcements that would further reduce exposure potential.

3.5.3 Workers

Re-entry activities are minimal in forestry and are usually mechanized. Therefore a re-entry interval is not necessary.

4.0 Residues

4.1 Residue summary

Not applicable as this product is not intended for use on food.

5.0 Fate and behaviour in the environment

5.1 Fate and behaviour in soil

5.1.1 Soil transformation

Azadirachtin hydrolyzes at environmentally relevant pH. It is photolytically unstable. Therefore, hydrolysis and phototransformation will be the principal routes of transformation in the environment. Aerobic biotransformation of azadirachtin in soil is also a route of transformation in the environment. No major transformation products were identified in the hydrolysis, phototransformation, and biotransformation of neem extract (Appendix II, Table 1).

Azadirachtin is non-persistent to slightly persistent in acrobic soil under laboratory conditions (DT_{50} 6–25 days). A terrestrial field dissipation study was not available for review.

Azadirachtin rapidly transforms in the presence of heat, moisture, air, and sunlight.

5.1.2 Mobility

A leaching study using a 60-cm column with sandy loam forest soil showed that azadirachtin was not strongly bound to the soil particles. In this study, 21% of the applied compound was found in the top 0–10 cm, 44% in the next 10–20 cm, 16% in the bottom 20–30 cm of the column, and 8% in the leachate.

5.2 Expected environmental concentration in soil

Assuming a soil bulk density of 1.5 g/cm^3, uniform distribution of the compound throughout a soil depth of 15 cm, and an application rate of 50 g a.i./ha to bare soil, the expected environmental concentration (EEC) in soil (EEC_{soil}) of azadirachtin is 0.022 mg a.i./kg.

5.3 Fate and behaviour in water

5.3.1 Aquatic transformation

Azadirachtin hydrolyzes at environmentally relevant pH. The rate of azadirachtin hydrolysis increases with an increase in alkalinity and an increase in temperature (Appendix II, Table 2).

5.3.2 Expected environmental concentrations in water

For a forestry scenario, the Tier I EEC in water (EEC_{water}) of azadirachtin from direct overspray of a body of water (15 cm deep) at the maximum recommended application rate of 50 g a.i./ha is 0.033 mg a.i./L. As a risk was indicated by the Tier I assessment, a Tier II assessment was triggered that took into account 50% interception by the forest canopy. This rate of interception was established through interdepartmental consultation with Fisheries and Oceans, Environment Canada, Natural Resources Canada (Forestry Sector) and the PMRA in 1996.

5.4 Fate and behaviour in air

The volatility of pure azadirachtin is unknown. Neemix 4.5® has a vapour pressure of 2.85×10^2 Pa, indicating that the product is highly volatile.

6.0 Effects on nontarget species

6.1 Effects on terrestrial nontarget species

6.1.1 Terrestrial organisms

Azadirachtin is practically nontoxic to the bobwhite quail on an acute and dietary basis. It is also nontoxic to the mallard duck on a dietary basis. Azadirachtin is nontoxic to the rat on an acute and dietary basis. Azadirachtin is nontoxic to honeybees (Appendix II, Table 3).

6.1.2 Aquatic organisms

The log K_{ow} value (1.9 at 25°C) indicates that azadirachtin has a negligible potential for bioconcentration or bioaccumulation in organisms. Azadirachtin is very highly toxic to fish and highly toxic to *Daphnia magna* on an acute basis (Appendix II, Table 4).

6.2 Environmental risk assessment

Risk to terrestrial and aquatic organisms from the use of azadirachtin was assessed using the margin of safety values (toxicity end point and EEC). Azadirachtin will not pose a risk to wild birds or mammals with the proposed use because it will take 50–60 days to reach the acute and dietary no observed effect concentrations (NOECs) for birds and more than three days to reach the acute NOEC for mammals. (The 50% dissipation time (DT_{50}) of azadirachtin in forestry foliage, soil, and litter ranges from 24 to 48 hours). Bees will not be at risk because the acute contact LD_{50} is equivalent to an application rate of 2.8 kg a.i./ha (Appendix II, Table 5). The Tier I aquatic risk assessment indicated that fish and daphnids might be adversely affected (margin of safety <1) (Appendix II, Tables 5 and 6); however, a more refined assessment that assumed a 50% interception by the forest canopy (as established through the interdepartmental consultation mentioned above) indicated low risk to these organisms.

6.3 Environmental risk mitigation

The buffer zone necessary to protect sensitive aquatic species was calculated using the Agdrift model, which assumes a fine droplet size distribution, 50% interception by the canopy, 15-m maximum boom height above the canopy, and 16 km/h maximum wind speed. The end point selected was the acute NOEC for rainbow trout, which was the most sensitive aquatic species in the data provided. Although the model indicated that no buffer zone would be required, the PMRA has introduced an additional safety factor by requiring a 50-m buffer zone around aquatic resources.

7.0 Value

7.1 Effectiveness

Insect	Scientific name	Proposed application technique	Proposed rate	Proposed product
Balsam fir sawfly	*Neodiprion abietis*	Air or ground	20–50 g a.i./ha	523–1307 mL/ha

Results were submitted from two efficacy trials conducted in Newfoundland that examined aerial and ground application of Neemix 4.5® at various rates to control BFS. In summary, in 1996, Neemix 4.5® was applied aerially on first and second instar larvae at a rate of 50 g a.i./ha and significantly reduced a BFS populations by 90% while providing some foliage protection (63% whole-tree defoliation verses an average of 82% whole-tree defoliation in untreated controls) in trees containing extremely high populations of BFS (precounts of 50 larvae per branch). A below rate application of 10 g a.i. of Neemix 4.5®, applied aerially on first and second instar larvae, did not provide much reduction in BFS populations, although defoliation was reduced. In 1999, a ground application of Neemix 4.5® applied on third and fourth instar larvae at a rate of 45 g a.i./ha provided little protection of foliage or reduction in populations, possibly

because of high rainfall after spraying. Neemix 4.5® applied by ground on third and fourth instar larvae at a rate of 20 g a.i./ha reduced populations slightly compared with controls and induced molting effects in BFS larvae. Sprayed trees were not defoliated any further.

Submitted efficacy data support label claims to apply between 20 and 50 g a.i./ha. However, the data do not allow for a determination of whether the lower rates are as efficacious as the higher rate of 50 g a.i./ha and do not allow for an assessment or determination of the criteria as to when to apply the high versus the low rate. The product should be applied on early instars of BFS, as 1999 spray trials conducted on third and fourth instar larvae did not appear to work as well as 1996 trials on first and second instars. Further efficacy data would be required to confirm when the lower rate should be used and if the higher rate is necessary.

Insect	Scientific name	Proposed application technique	Proposed rate	Proposed product
Yellow-headed spruce sawfly	*Pikonema alaskensis*	Air or ground	25–50 g a.i./ha	654–1307 mL/ha

Results were submitted from two efficacy trials that examined aerial and ground application of Neemix 4.5® at various rates to control YHSS. In summary, in 1997, Neemix 4.5®, when applied aerially at 25 g a.i./ha, reduced YHSS populations by 66% and reduced tree defoliation to 9.2% compared with a trichlorfon standard applied at 500 g a.i./ha, which reduced YHSS populations by 76% and reduced tree defoliation to 9.4% (tree defoliation in the untreated blocks was 32.6 and 39.5%). In 1999, single and double applications of Neemix 4.5® by ground at a rate of 25 g a.i./ha produced minimal reductions in YHSS populations and defoliation; however, feeding was reduced in the treatment blocks. The ground applications were made on older larvae (fourth instar) and may have been too late to have a significant impact on YHSS populations.

The data support the label claims of applying between 25 and 50 g a.i./ha and would seem to indicate that the low rate of 25 g a.i./ha is as efficacious as the higher rate of 50 g azadirachtin per hectare. Further efficacy data would be required to confirm when the lower rate should be used and if the higher rate is necessary. The product should be applied on early instars of YHSS, as the 1999 spray trials conducted on later instar larvae did not appear to work as well as the 1997 trials conducted on earlier instar larvae. Only one application of Neemix 4.5® was sprayed in all trials; it is not known whether an extra application would improve the efficacy of the product.

Insect	Scientific name	Proposed application technique	Proposed rate	Proposed product
Pine false webworm	*Acantholyda erythrocephala*	Air or ground	25–50 g a.i./ha	654 –1307 mL/ha

Results were submitted from one efficacy trial conducted in Ontario that examined aerial application of Neemix 4.5® at rates of 25 and 50 g a.i./ha to control PFW. Trees sprayed with Neemix 4.5® at rates of 25 and 50 g a.i./ha had 70.4 and 67.1% dead larvae at 9 days after treatment compared with 19.9% dead larvae found in untreated controls. End-of-season whole-tree defoliation estimates of the red pines indicated defoliation of 7.6% in trees sprayed with 25 g a.i./ha, 2.7% in trees sprayed with 50 g a.i./ha, and 40% whole-tree defoliation in untreated controls. Frass collections also indicated reduced feeding, as indicated at three weeks after treatment; one week's collection of frass from 10 trees showed 1.03 g frass collected under trees treated at 50 g a.i./ha, 2.14 g frass collected under trees treated at 25 g a.i./ha, and 16.24 g of frass collected under untreated trees. The lower rate of 25 g a.i./ha appeared to provide adequate protection of red pine foliage. However, the data indicate that populations of PFW in the block treated at 25 g a.i./ha were approximately 33% the size of the populations of PFW treated at the higher rate of treatment of 50 g a.i./ha. Although the two rates of treatment showed comparable whole-tree defoliation of red pine (less than 10%, compared with untreated controls of 40%), it is not known from the data if the lower rate would provide the same degree of protection in trees as the higher rate with larger populations of PFW.

7.2 Alternatives

For Forestry or Woodlands use, few Pest Control Products are registered for control of sawfly species. The organophosphate insecticide fenitrothion is registered for sawfly control; another organophosphate insecticide, trichlorfon, has been used for YHSS and was used for control of BFS in Newfoundland under an Emergency Registration in 1999. It should be noted that all organophosphate insecticides are currently under re-evaluation in Canada. No other biological or chemical control products are registered for use against sawfly species in Canadian forests.

8.0 Toxic substances management policy considerations

Neem extract is derived from a natural source. Neem extract does not meet the TSMP Track-1 criteria for persistence in soil, water, and sediment or for bioaccumulation. Further, TSMP Track-1 materials as identified in Appendix II of Regulatory Directive DIR99-03 *The Pest Management Regulatory Agency's Strategy for Implementing the Toxic Substances Management Policy* are not expected to be formed or present in the product.

9.0 Overall conclusions and regulatory decision

9.1 Assessments

9.1.1 Health risk assessment

Neem Concentrate TGAI (containing 4.5% azadirachtin) poses a slight acute toxicity hazard by the inhalation route. No significant acute hazard is associated with the oral and dermal routes.

Azatin 15% Technical (15% azadirachtin) poses no significant acute hazard via oral, dermal, or inhalation routes. The end use product (Neemix 4.5®) is moderately irritating to eyes and is mildly irritating to skin.

The Tier I data package included acute, short-term teratology, mutagenicity, and immunotoxicity studies. In mammals, Neem Concentrate TGAI is not considered to be fetotoxic or teratogenic, and both Neem Concentrate TGAI and Azatin 15% Technical are not considered to be genotoxic. A short-term study conducted in rats did not illustrate any major physiological effects in the test animals at the limit dose of 1000 mg/kg bw/d. The principal target organ was the liver.

Immunotoxicity was demonstrated in an immunotoxicity study following Neem Concentrate TGAI treatment via oral gavage in female mice with effects on spleen weight in combination with effects on the PFC assay and NK function. Azatin 15% Technical via dietary exposure caused suppression of cytotoxic T-lymphocyte function with no effect on any of the other immunotoxicity test parameters. In this study, the viability of the splenocytes was not reported and it is possible that the results seen in the cytotoxic T-lymphocyte function test are associated with decreased viability of splenocytes and are not related to dosing. Further immunotoxicity testing (Tier I) should be performed for Azatin 15% Technical and Neem Concentrate TGAI for continued forestry use in subsequent years, as well as any expansion of use with potential for subchronic and chronic exposure. The results of Tier I testing will determine a need for Tier II immunotoxicity data.

An intermediate-term mouse immunotoxicity study was determined to be the most relevant for the occupational risk assessment for mixers, loaders, and pilots. The margins of exposure (1500- to >5000-fold) for this proposed forestry use of Neemix 4.5®, calculated on the basis of typical North American use patterns, are considered acceptable.

A full toxicology data package is required before any expansion of forestry use or other uses involving subchronic and chronic exposures are to be considered for this product.

9.1.2 Environmental risk assessment

Risk to terrestrial and aquatic organisms from the use of azadirachtin was assessed using the margin of safety approach (toxicity end point and EEC). Azadirachtin will not pose a risk to wild birds or mammals with the proposed use because it will take 50–60 days to reach the acute and dietary NOECs for birds and more than three days to reach the acute NOEC for mammals. (The DT_{50} of azadirachtin in forestry foliage, soil, and litter ranges from 24 to 48 hours). Bees will not be at risk because the acute contact LD_{50} is equivalent to an application rate of 2.8 kg a.i./ha. Fish and aquatic invertebrates are unlikely to be affected at the proposed application rate assuming a 50% interception by the forest canopy. A 50-metre buffer zone provides an additional margin of safety for aquatic organisms.

9.1.3 Value assessment

Adequate data were provided from the aerial efficacy trials for BFS, YHSS, and PFW to support temporary registration; however, it was not possible to determine a clear dose response of the sawfly larvae to determine lowest effective rates. Further efficacy trials would be required in order to determine optimum rates of application.

Efficacy data generated for ground applications were inadequate to allow for efficacy assessment (late instars, rainfall events) and further data are required.

The product should be applied on early instars of sawfly.

Based on the mode of action of azadirachtin and other neem by-products in the formulation, there may be other effects besides immediate population reductions. Nonlethal effects were noted by the study authors (e.g., effects on moulting, antifeedant effects); however, these effects were not quantified in the submitted studies.

9.2 Label amendments and recommendations

Primary display panel:

The label classification will be RESTRICTED only.
The signal words WARNING EYE IRRITANT should be added.
The statement KEEP OUT OF REACH OF CHILDREN should be moved to the secondary display panel under PRECAUTIONS.

Secondary display panel:

Replace the existing statement with
KEEP OUT OF REACH OF CHILDREN.

The following changes should be added to the PRECAUTIONS section of the label:

- When handling the concentrate, and during mixing, loading, clean-up, and repairs, the following personal protective equipment must be worn: chemical-resistant coveralls over long-sleeved shirt, long pants, chemical-resistant gloves, rubber boots, protective eyewear, and headgear.
- Pilots must wear a long-sleeved shirt, long pants, shoes, and socks.
- For aerial application to forests and woodlands only. (Any reference to ground application must be removed from the label.)

The following statements on the Neemix 4.5® label are required under Environmental Hazards:

- Do not apply at a boom height higher than 15 m above canopy.
- Aerial drift is increased under certain meteorological conditions. Do not apply during periods of dead calm, when winds are gusty, or when wind speed is greater than 16 km/h at the flying height.
- For the protection of nontarget habitats, overspray, or drift to sensitive habitats must be avoided. A buffer zone of 50 downwind edge of the boom and sensitive aquatic habitats such as sloughs, ponds, lakes, rivers, streams, and wetlands. Do not contaminate these habitats when cleaning and rinsing spray equipment or containers.

Directions for Use are to be enclosed in a solid black line box along with Restricted Uses and the following text added:

- NATURE OF THE RESTRICTION: This product is to be used only in the manner authorized. Contact local pesticide regulatory authorities about use permits that may be required.
- Application is to be by air only.

9.3 Regulatory decision

Azatin 15% Technical and Neemix 4.5® have been granted a temporary registration for aerial forestry use for sawflies, pursuant to Section 17 of the PCP Regulations, subject to the generation of the following studies and clarifications:

- a revised Control Product Specification Form listing the correct common names of the impurities;
- results of the analysis for the content of aflatoxins in each batch of Azatin 15% Technical produced;
- immunotoxicity testing of Neem Concentrate TGAI and Azatin15% Technical: Tier I immunotoxicity testing using currently recommended methods, followed by Tier II immunotoxicity testing if triggers are observed in Tier I;
- efficacy data for ground application; and
- efficacy trials (aerial operational trials) conducted at the rate range proposed on the label.

List of abbreviations

a.i.	active ingredient
ADI	acceptable daily intake
BFS	balsam fir sawfly
CAS	Chemical Abstracts Service
DT_{50}	dissipation time at 50%
EEC	expected environmental concentration
EPA	Environmental Protection Agency
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LC_{50}	lethal concentration 50%
LD_{50}	lethal dose 50%
LOAEL	lowest observed adverse effect level
MAS	maximum average score
MCH	mean corpuscular haemoglobin
MCV	mean corpuscular volume
MIS	maximum irritation score
NK	natural killer cell
NOAEL	no observed adverse effect level
NOEC	no observed effect concentration
PCP	Pest Control Products
PFB	pine false webworm
PFC	plaque-forming cell assay
PHED	Pesticide Handlers Exposure Database
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
PMRA	Pest Management Regulatory Agency
$t_{½}$	half-life
TSMP	Toxic Substances Management Policy
YHSS	yellow-headed spruce sawfly

Appendix I Toxicology

Table 1 Neem Concentrate TGAI

Study type	Species and strain and dose	LD_{50} (mg/kg bw) and LC_{50} (mg/L)	Degree of toxicity and significant effects
Acute toxicity			
Oral	Rat (Sprague-Dawley), 5/sex 5000 mg/kg bw purity: 4.5% a.i.	LD_{50} >5000 mg/kg bw	Low toxicity One animal lost hair, one animal had dark red mottled lungs.
Dermal	Rabbit (New Zealand White), 5/sex 2000 mg/kg bw purity: 4.5% a.i.	LD_{50} > 2000 mg/kg bw	Low toxicity Dermal irritation, soft stools, faecal stain, clear ocular discharge were observed.
Inhalation	Rat (Sprague-Dawley), 5 0.54 or 5.33 mg/L purity: 4.5% a.i.	LC_{50} = 0.54 –5.33 mg/L	Slight toxicity Urine stain, breathing abnormalities, swollen eyelid(s), ↓ activity, rough coat, unkempt appearance, hair loss.
Eye irritation	Rabbit (New Zealand White), 2 ♂, 4 ♀ 0.1 mL undiluted purity: 4.5% a.i.	Maximum average score (MAS) = 8.89 (Maximum irritation score (MIS) = 11.17 at 24 h)	Mildly irritating Corneal opacity (1/6) and conjunctivitis (6/6), resolved by day 7–10.
Dermal irritation	Rabbit (New Zealand White), 2 ♂, 4 ♀ 0.5 mL undiluted purity: 4.5% a.i.	MAS = 1.04	Slightly irritating Erythema and edema resolved by 72 h.
Dermal sensitization (Buehler test)	Guinea Pig (Dunkin-Hartley), 20 ♂ purity: 4.5% a.i. 40% (1st induction), 100% (2nd and 3rd inductions and challenge)	Negative	Not a dermal sensitizer

Study	Species and strain or cell type	Dose	Significant effects and comments
Genotoxicity			
Ames test	*S. typhimurium* ± S9 purity: 2.3% a.i.	100, 333, 667, 1000, 3330 or 5000 μg/plate	Negative
Forward mutations at the thymidine kinase locus (in vitro)	Mouse lymphoma L5178Y cell line, ± S9 purity: 2.3% a.i.	12.5–150 μg/mL	Negative
Structural chromosomal aberrations in vivo (micronucleus test)	Mice purity: 4.5% a.i.	1250, 2500 or 5000 mg/kg bw	Negative
Study	**Species (strain) and dose**	**NOAEL and LOAEL (mg/kg bw/d)**	**Significant effects at different doses (mg/kg bw/d) and comments**
Subchronic toxicity			
Dietary (90 days)	Rat (Sprague-Dawley Control: CD®BR VAF Plus), 10/sex/group 0 or 1000 mg/kg bw/d purity: 4.5% a.i.	LOAEL: 1000 NOAEL: Not determined	1000: ↓ body wt & body wt gain (♂,♀); ↓ MCV & MCH (♂); ↓ leukocytes (♀), ↓ lymphocytes (♀), ↓ monocytes (♀), ↑ reticulocytes (♀), ↓ glucose (♂,♀), ↑ cholesterol (♀), ↑ creatinine (♂,♀), ↓ triglycerides (♂,♀), ↑ alkaline phosphatase (♂,♀), ↓ organ wts (kidney, heart & adrenal in ♂,♀ and ovary in ♀ with no histopathology observed); ↑ liver wts (♂,♀), bile duct proliferation (♂,♀)
Reproductive and developmental toxicity			
Teratogenicity	Rat (Sprague-Dawley), 25/group 10, 100 or 1000 mg/kg bw/d by gavage on gestation days 6–15 purity: 4.5% a.i.	Maternal: NOAEL = 1000 Embryo or fetal: NOAEL = 1000	No toxicity was observed up to the dose level of 1000 mg/kg bw/d (high dose). Not teratogenic
Special studies (immunotoxicity)			
Gavage (30 d)	Mice ($B_6C_3F_1$), 40 ♀/dose 0, 250, 500, or 1000 mg/kg bw/d purity: 4.5% a.i. Positive controls: Cyclophosphamide (80 mg/kg bw), *N*-deacetyl-*N*-methylcolchine (0.1 μg/mL) and recombinant human interleukin-2 (optimal concentration)	LOAEL: 250 NOAEL: Not determined	≥250: ↓ body wt gain, ↓ food consumption, ↑ water intake, ↓ spleen wt, ↓ IgM antibody forming cells in response to sheep red blood cells, ↓ basal NK cell activity 1000: ↑ platelet counts, ↓ augmented (IL-2) NK-cell function.

Table 2 Azatin 15% Technical and Neemix 4.5®

Study type	Species, strain, and dose	LD_{50} (mg/kg bw) and LC_{50} (mg/L)	Degree of toxicity and significant effects
Acute toxicity for Azatin 15% Technical			
Oral	Rat (Sprague-Dawley) 5/sex 5000 mg/kg bw purity: not stated	LD_{50} > 5000 mg/kg bw	Low toxicity Lethargy, hunched posture.
Dermal	Rabbit (New Zealand White); 5/sex 2000 mg/kg bw purity: not stated	LD_{50} > 2000 mg/kg bw	Low toxicity Dermal irritation, transient diarrhea.
Inhalation	Rat (Sprague-Dawley) 2.41 mg/L (4 h) purity: not stated	LC_{50} > 2.41 mg/L	Low toxicity Clear nasal discharge, salivation, redness around the eyes and rales, mouth breathing, wheezing.
Eye irritation	Rabbit (New Zealand White), 3/sex 0.1 g undiluted purity: 8.65% a.i.	MAS = 2.2	Minimally irritating No corneal opacity, iritis (2/6) at 1-h only, erythema and chemosis (6/6), resolved by day 2–3.
Dermal irritation	Rabbit (New Zealand White), 3/sex 0.5 g undiluted purity: 8.6% a.i.	MAS = 0	Non-irritating
Dermal sensitization (Buehler test)	Guinea pig (Hartley), 10 ♂/group purity: 19.2% a.i. 25% (induction), 0.5% (challenge)	Negative	Not a dermal sensitizer
Acute toxicity for Neemix 4.5®			
Oral	Rat (Sprague-Dawley), 5/sex 5000 mg/kg bw	LD_{50} > 5000 mg/kg bw	Low toxicity Transient incidences of rales, urine stains, rough coat, dark material around the fecal area.
Dermal	Rabbit (New Zealand White), 5/sex 2000 mg/kg bw	LD_{50} > 2000 mg/kg bw	Low toxicity Transient incidences of faecal stain and dark material around the fecal area.
Inhalation	Rat (Sprague-Dawley), 5/sex 2.05 mg/L (4 h)	LC_{50} > 2.05 mg/L	Low toxicity Breathing abnormalities, ↓ defecation, wobbly gait, ↓ activity, piloerection, lacrimation, urine stain and dark material around the fecal area.
Eye irritation	Rabbit (New Zealand White), 6 ♀ 0.1 mL undiluted	MAS = 23.89 (MIS = 39 @ 1h in 1 animal)	Moderately irritating Corneal opacity (4/6) at 24 h, resolved by day 10.

Study type	Species, strain, and dose	LD_{50} (mg/kg bw) and LC_{50} (mg/L)	Degree of toxicity and significant effects
Dermal irritation	Rabbit (New Zealand White), 1 ♂ and 5 ♀ 0.5 mL undiluted	MAS = 1.71	Mildly irritating Very slight to slight erythema (6/6), resolved by day 7.
Dermal sensitization (Buehler test)	Guinea pig (Hartley albino), 5/sex/group 25, 50, 75, or 100% (induction & challenge)	Negative	Not a dermal sensitizer
Study	**Species or strain or cell type**	**Doses employed**	**Significant effects and comments**
Genotoxicity			
Ames test	*S. typhimurium* ± S9 (purity: 8.6% a.i.)	5, 1, 0.5, 0.05, or 0.005 mg/plate	Negative
Study	**Species or strain and doses**	**NOAEL or LOAEL (mg/kg bw/d)**	**Significant effects at different doses (mg/kg bw/d) and comments**
Subchronic toxicity			
Dietary (90 d)	Rat (Sprague-Dawley Crl:CD®BR VAF Plus), 10/sex/group 0, 500, 2500 or 10 000 ppm (0, 32.1, 161.4 or 632.4 mg/kg bw/d) purity: 7.74 % a.i.	LOAEL: 632 (♂) 161 (♀) NOAEL: 161 (♂) 32 (♀)	161.4: ↑ gamma glutamyl transpeptidase (♀), ↑ liver wt (♀) 632: ↓ body wt, body wt gain & food consumption (♂,♀); ↓ MCV, MCH & MCHC (♂); ↓ haemoglobin, hematocrit & MCV (♀); ↑ blood urea nitrogen (♂), ↑ gamma glutamyl transpeptidase (♂,♀), ↑ creatinine (♀), ↑ liver wt (♂,♀) and ↓ ovary wt (♀) with no histopathology observed
Special studies (immunotoxicity)			
Dietary (30 d)	Mice ($B_6C_3F_1$), 40 ♀/dose 0, 500, 1250 or 5000 ppm (0, 112, 295 or 1100 mg/kg bw/d) purity: 7.74% a.i. Positive controls: Cyclophosphamide (80 mg/kg bw), *N*-deacetyl-*N*-methylcolchine (0.1 µg/mL) and recombinant human interleukin-2 (optimal concentration)	Immunotoxicity LOAEL: 112 NOAEL: Not determined	≥112: ↓ cytotoxic T-lymphocyte function 1100: ↓ body weight gain possibly due to palatability, ↑ platelet counts

Appendix II Environmental Assessment

Table 1 Summary of terrestrial fate and transformation data

Process	End point	Comments
Hydrolysis	$t_{½}$ at 20°C pH 4 19 d pH 7 13 d pH 10 2 h	Buffered solutions. Hydrolysis is greatly influenced by pH in the order pH 10>>pH7>pH4. Hydrolysis is a principal route of transformation at neutral and basic pH.
	$t_{½}$ at 20°C pH 8±0.5 7 d	Pond water. Hydrolysis is a route of transformation at neutral pH.
	$t_{½}$ at 35°C pH 5 11.5 d pH 7 2.4 d pH 8 0.5 d	Buffered solutions. Hydrolysis is a principal route of transformation at neutral and basic pH. At 25°C and pH 7, $t_{½}$ was 11 d; hydrolysis of azadirachtin is greatly influenced by temperature.
	$t_{½}$ at 35°C pH 6.2 21 d pH 7.3 2 d pH 8 0.5 d	Natural waters. Hydrolysis is a principal route of transformation at neutral and basic pH.
Phototransformation	$t_{½}$ 7 d	Study conducted on plant. Phototransformation is a principal route of transformation.
Aerobic biotransformation	DT_{50} 26 d at 22°C	Greenhouse study on nursery soil. Aerobic biotransformation will be a route of transformation.
	DT_{50} 6 d	Study conducted with Margosan O (0.25% azadirachtin). The study is a combination of biotransformation and leaching. As such, the methodology did not conform with guidance offered in T-1-255, Guidelines for Determining Environmental Chemistry and Fate of Pesticides.
Anaerobic biotransformation	No data available.	
Adsorption or desorption	K_{oc} 5.1–7.9	Azadirachtin has high mobility in forestry sandy loam soil.
Soil column leaching	21% in 0–10 cm 44% in 10–20 cm 16% in 20–30 cm 8% in leachate	Azadirachtin has a potential for leaching in sandy loam soil.
EEC in soil	0.022 mg a.i./kg dry soil	

Table 2 Summary of aquatic fate and transformation data

Process	End point	Comments
Hydrolysis	$t_{½}$ at 20°C pH 4 19 d pH 7 13 d pH 10 2 h	Buffered solutions. Hydrolysis is greatly influenced by pH in the order pH 10 >> pH7 > pH4. Hydrolysis is a principal route of transformation at neutral and basic pH.
	$t_{½}$ at 20°C pH 8±0.5 7 d	Pond water. Hydrolysis is a route of transformation at neutral pH.
	$t_{½}$ at 35°C pH 5 11.5 d pH 7 2.4 d pH 8 0.5 d	Buffered solutions. Hydrolysis is a principal route of transformation at neutral and basic pH. At 25°C and pH 7 $t_{½}$ was 11d; hydrolysis of azadirachtin is greatly influenced by temperature.
	$t_{½}$ at 35°C pH 6.2 21 d pH 7.3 2 d pH 8 0.5 d	Natural waters. Hydrolysis is a principal route of transformation at neutral and basic pH.
Phototransformation	No data available.	
Aerobic biotransformation	No data available.	
Anaerobic biotransformation	No data available.	
EEC in water (Tier I, direct overspray)	0.033 mg a.i./L	Forestry use

Table 3 Summary of toxicity of azadirachtin for terrestrial organisms

Group	Organism	Study	NOEC	LD_{50} and LC_{50}	Degree of toxicity
Birds	Bobwhite quail	acute oral	29.2 mg a.i./kg bw	LD_{50} > 225 mg a.i./kg bw	Moderate
	Bobwhite quail	acute oral	477 mg a.i./kg diet	LC_{50} > 477 mg a.i./kg diet	Moderate
	Bobwhite quail	dietary	1111 mg a.i./kg diet	LC_{50} > 1111 mg a.i./kg diet	Slight
	Bobwhite quail	dietary	316 mg a.i./kg diet	LC_{50} > 562 mg a.i./kg diet	Moderate
	Mallard duck	dietary	278 mg a.i./kg diet	LC_{50} > 1111 mg a.i./kg diet	Slight
Mammals	Rat	acute oral		LD_{50} > 5000 mg Azatin/kg bw	None
	Rat	acute oral		LD_{50} > 5000 mg Neemix/kg bw	None
	Rat	90 d dietary (7.74% a.i.)	LOAEL: 632 mg Azatin/kg bw/d (♂) 161 mg Azatin/kg bw/d (♀) NOAEL: 161 mg Azatin/kg bw/d (♂) 32 mg Azatin/kg bw/d (♀)		
	Mouse	30 d (7.74% a.i.)	LOAEL: 112 mg Azatin/kg bw/d(♀)		Potentially immunotoxic
Soil organisms	Earthworm	acute		0.0264 kg a.i./ha (field application) had no effect on population	
Predators and parasites	Honeybees	acute contact		LD_{50} > 2.5 μg a.i./bee	Moderate

Table 4 Summary of toxicity of azadirachtin to aquatic organisms

Group	Organism	Study	NOEC (mg a.i./L)	LC_{50} (mg a.i./L)	Degree of toxicity
Fish	Rainbow trout	Acute	0.016	0.048	Very high
	Bluegill sunfish	Acute	0.06	0.11	High
Invertebrates	Water flea	Acute	0.13	1.0	High
	Water flea	Acute	0.03	0.039	Very high

Table 5 Summary of risks to terrestrial organisms

Organism	Effect	Toxicity end point	EEC	Margin of safety	Risk	Mitigative measures
Bobwhite quail	Acute oral	NOEC = 29.2 mg a.i./kg bw	6 mg a.i./kg dw	60 days	no risk	not required
Bobwhite quail	Dietary	NOEC = 316 mg a.i./kg diet	6 mg a.i./kg dw	52.7	no risk	not required
Mallard duck	Dietary	NOEC = 278 mg a.i./kg bw	1.7 mg a.i./kg dw	164	no risk	not required
Rat	Acute oral	LD_{50} > 5000 mg Neemix 4.5*/kg bw (i.e., >1111 mg a.i./kg bw)	25.2 mg a.i./kg dw	>3.3 days	no risk	not required
Earthworm	Acute	0.0264 kg a.i./ha (field application) had no effect on population	0.022 mg a.i./kg		no risk	not required
Honeybees	Acute contact	LD_{50} > 2.5 µg a.i./bee or 2.8 kg a.i./ha*	50 g a.i./ha		no risk	not required

* µg/bee is converted to g/ha by multiplying with 1.12.

Table 6 Summary of Tier I risk assessment to aquatic organisms

Organism	Effect	NOEC (mg a.i./L)	EEC (mg a.i./L)	Margin of safety	Risk
Water flea	Acute	0.03	0.033	0.9	Risk*
Rainbow trout	Acute	0.016	0.033	0.4	Risk*

* Tier II assessment is triggered.

Pest Management Regulatory Agency
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire

Note réglementaire

REG2000-13

Neemix 4.5®

L'insecticide naturel végétal Neemix 4.5®, qui contient la matière active azadirachtine employée pour la lutte contre les tenthrèdes en foresterie au Canada, a reçu une homologation temporaire en vertu de l'article 17 du *Règlement sur les produits antiparasitaires*.

Cette note réglementaire présente un résumé des données examinées et la justification de la décision réglementaire concernant ce produit.

(also available in English)

Le 16 octobre 2000

Ce document est publié par la Division de la gestion des demandes d'homologation et de l'information, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

Coordonnatrice des publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
I.A. 6606D1
2250, promenade Riverside
Ottawa (Ontario)
K1A 0K9

Internet : pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou (613) 736-3799
Télécopieur : (613) 736-3798

Avant-propos

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA), de Santé Canada, a accordé une homologation temporaire au Neemix 4.5®, un insecticide végétal naturel, mis au point par la Thermotrilogy Corporation. Le Neemix 4.5® contient la matière active azadirachtine, efficace contre les tenthrèdes en foresterie.

La Thermotrilogy Corporation doit effectuer des études additionnelles sur la chimie, la toxicologie et l'efficacité du produit pour satisfaire à l'une des conditions de cette homologation provisoire. Après un examen de ces nouvelles données, l'ARLA publiera un projet de décision réglementaire et elle sollicitera les commentaires des parties intéressées avant de prendre une décision réglementaire finale.

Table des matières

1.0 Matières actives - propriétés, utilisations, classification proposée et étiquetage 1
1.1 Description de la matière active et des préparations la contenant 1
1.2 Propriétés physiques et chimiques de la matière active 2
1.3 Précisions sur les utilisations 3
1.4 Classification et étiquetage 4
1.4.1 Azatin de qualité technique à 15 % 4
1.4.2 Neemix 4.5® (préparation commerciale) 4

2.0 Méthodes d'analyse 5
2.1 Méthodes d'analyse de la matière active obtenue 5
2.2 Méthode d'analyse de la formulation 5

3.0 Impact sur la santé humaine et animale 5
3.1 Sommaire récapitulatif des données toxicologiques 5
3.2 Détermination de la dose journalière admissible 7
3.3 Dose de référence aiguë 7
3.4 Sélection du résultat toxicologique recherché pour l'estimation des risques associés à l'exposition professionnelle et occasionnelle 8
3.5 Incidences sur la santé humaine et animale de l'exposition au Neemix 4.5® 9
3.5.1 Évaluation de l'exposition des opérateurs 9
3.5.2 Exposition occasionnelle 11
3.5.3 Exposition professionnelle 11

4.0 Résidus 11
4.1 Sommaire concernant les résidus 11

5.0 Devenir et comportement dans l'environnement 11
5.1 Devenir et comportement dans le sol 11
5.1.1 Transformation dans le sol 11
5.1.2 Mobilité 12
5.2 Concentration prévue dans l'environnement (sol) 12
5.3 Devenir et comportement dans l'eau 12
5.3.1 Transformation en milieu aquatique 12
5.3.2 Concentrations prévues dans l'environnement (eau) 12
5.4 Devenir et comportement dans l'air 12

6.0 Effets sur les espèces non ciblées 13
6.1 Effets sur les espèces terrestres non ciblées 13
6.1.1 Organismes terrestres 13
6.1.2 Organismes aquatiques 13
6.2 Évaluation des risques pour l'environnement 13
6.3 Atténuation des risques pour l'environnement 13

7.0 Valeur 14
7.1 Efficacité 14
7.2 Autres solutions possible 16

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques 16

9.0 Conclusions générales et décision réglementaire 17
9.1 Évaluation 17
9.1.1 Évaluation des risques pour la santé 17
9.1.2 Évaluation des risques pour l'environnement 18
9.1.3 Évaluation de la valeur 18
9.2 Modification des étiquettes et recommandations 19
9.3 Décision réglementaire 20

Liste des abréviations 21

Annexe I Toxicologie 23
Tableau 1 Concentré de neem 23
Tableau 2 Azatin de qualité technique à 15 % et Neemix 4.5® 25

Annexe II Évaluation des risques pour l'environnement 29
Tableau 1 Sommaire des données sur le devenir et les transformations en milieu terrestre 29
Tableau 2 Sommaire des données sur le devenir et les transformations en milieu aquatique 30
Tableau 3 Sommaire des données sur la toxicité de l'azadirachtine pour les organismes terrestres 31
Tableau 4 Sommaire des données sur la toxicité de l'azadirachtine pour les organismes aquatiques 32
Tableau 5 Sommaire des risques pour les organismes terrestres 32
Tableau 6 Sommaire de l'évaluation des risques de niveau I pour les organismes aquatiques 32

1.0 Matières actives - propriétés, utilisations, classification proposée et étiquetage

1.1 Description de la matière active et des préparations la contenant

Matière active : azadirachtine

Fonction : insecticide

Nom chimique (UICPA) : Il n'y a pas de nom UICPA.

Nom chimique (CAS) : diméthyl [2aR-[2*a*α,3β,4β(1*a*R*,2*S**,3*aS**,6*aS**,7*S**,7*aS**), 4*a*β,5α,7*aS**, 8β(E),10β,10*a*α,10*b*β]]-10- (acétyloxy) octahydro-3,5- dihydroxy-4-méthyl-8-[(2-méthyl-1-oxo-2-buténynl)oxy]-4-[(3*a*,6*a*,7,7*a*)-tétrahydro-6*a*-hydroxy-7*a*-méthyl- 2,7-méthanofuro[2,3-*b*]oxiréno[*e*]oxépin-1*a*(2H)-yl]-1H,7H-naphthol[1,8-*bc* :4,4*a*-*c'*]difuran-5, 10*a*(8H)-dicarboxylate

N° CAS : azadirachtine A 11141-17-6
azadirachtine B 95507-01-0

Pureté nominale de la matière active : 15 %

Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre :

Une petite quantité d'aflatoxines peut être présente dans les graines de neem, qui sont la matière de base pour l'obtention de l'azadirachtine. La compagnie a établi des procédures normalisées d'obtention pour réduire au minimum la quantité d'aflatoxines présente dans les graines. L'application de ces procédures permettra de limiter la teneur en aflatoxines du produit de qualité technique à une valeur maximale de 80 ppb. On doit analyser chaque lot de produit de qualité technique afin de garantir que cette teneur ne dépasse pas 80 ppb.

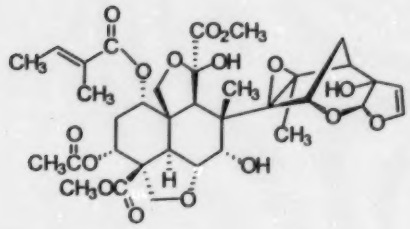
Ce produit ne devrait pas contenir des substances de la voie 1 dont il est question dans la Politique de gestion des substances toxiques (PGST), et qui sont énumérées dans l'annexe II de la directive d'homologation DIR99-03, *Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire concernant la mise en oeuvre de la Politique de gestion des substances toxiques*.

Formule moléculaire : $C_{35}\ H_{44}\ O_{16}$ (azadirachtine A)
$C_{33}\ H_{42}\ O_{14}$ (azadirachtine B)

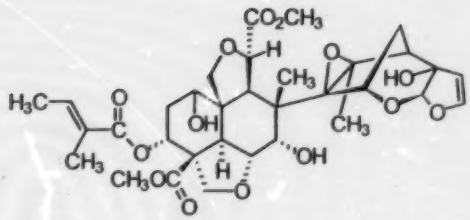
Masse moléculaire : 720,7 (azadirachtine A)
662,7 (azadirachtine B)

Formule développée :

azadirachtine A



azadirachtine B



1.2 Propriétés physiques et chimiques de la matière active

Produit de qualité technique : azadirachtine

Propriétés	Résultats
Couleur et état physique	solide amorphe jaune moutarde pâle
Odeur	soufre
Point ou plage de fusion	85–105 °C
Point ou plage d'ébullition	sans objet
Masse volumique	1,2 g/mL à 24 °C
Tension de vapeur	2,14 mm Hg à 20 °C
Spectre d'absorption dans l'UV et le visible à 26 °C	λ_{max} : 220 nm
Solubilité dans l'eau (mg/mL)	$2{,}8 \times 10^{-5}$ à 10 °C $5{,}0 \times 10^{-5}$ à 25 °C $3{,}0 \times 10^{-4}$ à 50 °C
Solubilité dans les solvants organiques	
acétone	2,0 mg/mL à 10 °C
	6,25 mg/mL à 25 °C
	9,5 mg/mL à 50 °C
éthanol	0,05 mg/mL à 10 °C
	0,125 mg/mL à 25 °C
	3,75 mg/mL à 50 °C
méthanol	0,01 mg/mL à 10 °C
	0,10 mg/mL à 25 °C
	4,25 mg/mL à 50 °C
hexane	< 200 ppm à 25 °C

Propriétés	Résultats
coefficient de partition *n*-octanol-eau (K_{ow})	12,3 ± 0,2
log K_{ow}	1,09
Constante de dissociation	Sans objet; pas de parties dissociables
Stabilité (température, métaux)	On croit que ce produit est stable dans des conditions normales d'utilisation.

Préparation commerciale : Neemix 4.5®

Propriété	Résultat
Couleur	rouge-brun foncé
Odeur	banane et menthe
État physique	liquide
Type de formulation	concentré émulsifiable
Garantie	4,5 %
Matière du contenant et description	plastique; 0,5, 1,0, 5,0 et 10,0 L
Masse volumique	0,91 g/mL
pH	5,2
Stabilité du produit entreposé	Stable pendant 12 mois à la température ambiante, dans son emballage commercial.
Surfactants	Atlox AL-1447

1.3 Précisions sur les utilisations

Le Neemix 4.5® est destiné à être pulvérisé par voie aérienne pour la lutte contre trois espèces de tenthrèdes qui causent actuellement des dommages considérables aux forêts canadiennes. On recommande son utilisation pour la lutte contre le diprion du sapin (DS), *Neodiprion abietis* (Harr.), la tenthrède à tête jaune de l'épinette (TTJE), *Pikonema alaskensis,* et le pamphile introduit du pin (PIP), *Acantholyda erythrocephala,* par une application de 20 à 50 g de m.a./ha sur les premiers stades larvaires.

Le diprion du sapin est une espèce indigène qu'on trouve dans une bonne partie du Canada et des États-Unis. Le DS cause des problèmes croissants dans les peuplements de sapins baumiers de l'est du Canada, notamment dans l'ouest de Terre-Neuve (en 2000, on prévoit des populations moyennes à fortes dans 40 000 ha de forêts), ainsi que dans des régions du Cap Breton et de la côte est de la Nouvelle-Écosse. Son hôte préféré est le sapin baumier, mais il ne dédaigne pas non plus l'épinette. Au stade larvaire, le DS se nourrit d'aiguilles d'arbres d'un an et plus. Au bout d'un an, ces dommages peuvent se

traduire par une forte perte de croissance, qui perdure pendant plusieurs années et rend les arbres affaiblis plus susceptibles d'être attaqués par d'autres organismes. Si la défoliation se poursuit pendant plusieurs années, l'arbre peut mourir.

La tenthrède à tête jaune de l'épinette est un dangereux ravageur des épinettes de plantation et en croissance libre dans de nombreuses régions de l'Amérique du Nord. Au Canada, ce problème est particulièrement aigu dans la région de la baie de Fundy, et il est aussi préoccupant au Québec et en Ontario. Les jeunes larves ne se nourrissent que de feuillage nouveau ou de celui d'arbres de l'année, mais près du stade larvaire final, les larves mangent aussi des aiguilles plus anciennes. Des infestations persistantes entraveront la croissance et auront un effet important sur l'aspect de l'arbre, surtout dans le cas des jeunes arbres. Deux années ou plus de défoliation peuvent suffire à tuer des arbres, surtout si l'infestation de tenthrèdes coïncide avec des périodes de sécheresse.

Le pamphile introduit du pin est une tenthrède qui tisse une toile; c'est une espèce qui provient du nord de l'Europe et qui se nourrit d'aiguilles de pins. Cette espèce, qui était un ravageur occasionnel des plantations de jeunes pins rouges en Ontario, attaque maintenant des plantations de pins rouges semi-matures et matures de grande valeur, et des arbres sont perdus. C'est aussi un important ravageur des grands pins blancs de l'Ontario et de l'État de New York. En Ontario, elle menace des plantations de pins rouges évaluées à 40 millions de dollars.

1.4 Classification et étiquetage

1.4.1 Azatin de qualité technique à 15 %

La matière active de qualité technique azatin à 15 % a une faible toxicité par les voies d'exposition orale, cutanée et respiratoire. Elle est très peu irritante pour les yeux et elle n'irrite, ni ne sensibilise la peau. Aucun de ses constituants ne figure sur la liste des Inerts of Toxicological Concern (liste 1), ni sur la liste des Inerts for Priority Testing (liste 2) de l'Environnemental Protection Agency (EPA).

1.4.2 Neemix 4.5® (préparation commerciale)

La formulation Neemix 4.5® a une faible toxicité aiguë par les voies d'exposition orale, cutanée et respiratoire. Elle est modérément irritante pour les yeux, très peu irritante pour la peau et elle ne sensibilise pas celle-ci. Aucun des constituants du Neemix 4.5® n'est sur la liste des Inerts of Toxicological Concern (liste 1), ni sur la liste des Inerts for Priority Testing (liste 2) de l'EPA.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'analyse de la matière active obtenue

Pour l'analyse de la matière active et de ses impuretés, on a utilisé la méthode de la chromatographie liquide haute performance (CLHP) à détection UV. La plage linéaire du détecteur est suffisamment large, et la précision et l'exactitude de la méthode sont acceptables. On a évalué et validé intégralement la méthode d'analyse de la matière active.

On a également confirmé la linéarité et la spécificité de la méthode pour les impuretés. On n'a pas présenté d'informations sur sa précision et son exactitude pour les impuretés, mais, à cause des caractéristiques biologiques et de la nature complexe des impuretés, l'Agence a levé l'exigence relative à l'exactitude et à la précision de la méthode.

2.2 Méthode d'analyse de la formulation

On a utilisé une méthode de CLHP à détection UV pour la détermination de la matière active dans ce produit. La spécificité, la linéarité, la précision et l'exactitude de cette méthode sont satisfaisantes, et on peut l'utiliser pour l'application de la loi.

3.0 Impact sur la santé humaine et animale

3.1 Sommaire récapitulatif des données toxicologiques

L'azadirachtine (un régulateur de la croissance des insectes) est le composé actif des matières actives de qualité de qualité technique (MAQT) que sont le concentré de neem et l'azatin de qualité technique à 15 %, qui contiennent tous deux un extrait naturel de graines du neem, *Azadirachta indica*, un arbre qui pousse dans certaines régions de l'Inde, de l'Afrique, de l'Indonésie et de l'Amérique du Sud. Le demandeur d'homologation a présenté deux ensembles de données pour deux utilisations différentes. À cause de lacunes dans les deux demandes et parce que la source des deux matières actives de qualité technique est la même (la partie hydrophile de la molécule), l'ARLA a combiné ces deux ensembles de données pour effectuer un examen plus complet, qui a permis de déterminer les doses sans effet nocif observé (DSENO) et de tirer des conclusions concernant leurs effets nocifs possibles pour la santé.

Le concentré de neem a une faible toxicité aiguë par voie d'exposition orale ou cutanée, et il est légèrement toxique par inhalation, faiblement irritant pour les yeux, légèrement irritant pour la peau, et il ne sensibilise pas celle-ci.

L'azatin de qualité technique à 15 % est un produit de faible toxicité aiguë par voie orale, cutanée ou respiratoire; il est très peu irritant pour les yeux et il n'irrite ni ne sensibilise la peau. On considère que la formulation Neemix 4.5® a une faible toxicité aiguë par voie orale, cutanée ou respiratoire, qu'elle est moyennement irritante pour les yeux, faiblement irritante pour la peau et qu'elle ne sensibilise pas celle-ci.

Deux études à court terme effectuées sur le rat révèlent l'existence d'effets sur les paramètres hématologiques [plus faible valeur du volume globulaire moyen (VGM) et de la concentration moyenne de l'hémoglobine des hématies (CMHH), ce qui suggère une légère anémie hypochrome et microcytaire] à des teneurs supérieures à 632 mg/kg m.c./jour. On note des changements dans les numérations leucocytaires, lymphocytaires, monocytaires et réticulocytaires à la dose limite de 1000 mg/kg m.c./jour. Le principal organe atteint est le foie, dont la masse s'accroît et dont les paramètres chimiques cliniques sont altérés. De plus, à la dose limite de 1000 mg/kg m.c./jour, on a également observé des cas de prolifération des canaux biliaires. Ce composé a également des effets sur la masse des reins, du coeur, des glandes surrénales et des ovaires; toutefois, on ne note aucune corrélation histopathologique pour ces organes. Les différences selon le sexe ne sont pas très évidentes chez le rat : chez les mâles, plus sensibles, on observe une plus grande prolifération des canaux biliaires dans les espaces portes du foie, alors que chez les femelles, on note des accroissements de la masse du foie et des teneurs en gamma-glutamyltranspeptidase à une dose plus faible, ce qui peut indiquer l'existence de lésions hépatobiliaires. Faute d'études sur la toxicité chronique et sur la cancérogénicité, on ne peut écarter la possibilité que l'exposition à ce composé ne cause des effets toxiques à long terme.

Bien qu'on ait noté une diminution de la masse des surrénales et/ou des ovaires chez le rat après une exposition alimentaire de 90 jours, on n'a pas établi de corrélation histopathologique. Toutefois, en raison du mode d'action endocrinien chez les insectes et de l'absence d'études sur la toxicité au niveau de la reproduction, on ne peut écarter la possibilité d'effets endocriniens exercés par ce composé. On n'a observé aucun signe de toxicité neurologique dû à l'exposition par voie alimentaire ou par gavage à la dose limite de 1000 mg/kg m.c./jour.

Le concentré n'est pas mutagène in vitro pour les cellules bactériennes et de mammifères, et on a obtenu des résultats négatifs pour ce qui est de l'induction in vivo d'aberrations chromosomiques structurelles chez la souris. En outre, l'azatin de qualité technique à 15 % n'est pas mutagène pour les bactéries. Une étude sur la toxicité sur le plan de la croissance avec le concentré n'a pas réussi à démontrer que ce composé a des effets toxiques chez les rats femelles, ni d'effets toxiques ou tératogènes chez les embryons ou les foetus, jusqu'à la dose limite de 1000 mg/kg m.c./jour.

On a établi l'immunotoxicité de ce composé au moyen d'une étude par gavage de souris femelles avec le concentré. Dans cette étude, on a noté des diminutions de masse corporelle égales ou supérieures à 30 %, et la consommation alimentaire était réduite de façon significative. On a noté des cas de stress et de malnutrition graves liés à un effet indirect d'immunomodulation. Bien que la dose sélectionnée puisse ne pas être appropriée, selon les effets sur la masse de la rate et les effets observés sur les résultats obtenus avec la technique des plaques d'hémolyse (TPH) et sur le fonctionnement des cellules NK, il est confirmé que le concentré peut exercer des effets sur le système immunitaire, éventuellement d'importance clinique. On n'a observé aucun de ces effets chez les souris traitées à l'azatin de qualité technique à 15 % par voie alimentaire, jusqu'à la dose maximale de 1100 mg/kg m.c./jour. Toutefois, l'exposition par voie alimentaire à l'azatin supprime le fonctionnement des lymphocytes T cytotoxiques. Dans cette étude,

on n'a pas étudié la viabilité des splénocytes et pour cette raison, il est possible que les résultats observés avec les tests sur les lymphocytes T cytotoxiques soient associés à une viabilité réduite des splénocytes plutôt qu'à la dose utilisée.

Même s'ils sont limités, les deux ensembles de données indiquent la possibilité d'effets immunotoxiques. Il faut effectuer des tests adéquats sur l'immunotoxicité de niveau I pour l'azatin de qualité technique à 15 % et le concentré, qui pourraient servir de base pour déterminer la sûreté des utilisations en foresterie et de toute autre utilisation pouvant être à l'origine d'expositions subchroniques et chroniques. Les résultats des tests de premier niveau permettront de déterminer si des données d'immunotoxicité de niveau II sont nécessaires.

Quant à l'exposition professionnelle à court terme prévue pour cette utilisation en foresterie, on utilisera le seuil d'effets nocifs observés (SENO), calculé d'après les effets sur le fonctionnement des lymphocytes T cytotoxiques (500 ppm; 112 mg d'azatin de qualité technique à 15 % /kg m.c./jour). On doit ajouter d'autres facteurs de sécurité pour les équipements de protection individuelle des travailleurs afin de réduire au minimum leur exposition. Il faut obtenir un ensemble complet de données toxicologiques avant d'envisager toute possibilité d'accroissement des utilisations forestières ou d'autres utilisations pouvant être à l'origine d'expositions subchroniques ou chroniques. Cette décision est fondée sur les résultats suivants :

i) Certaines données suggèrent qu'il y a des effets sur l'immunosuppression, et le manque de données sur l'exposition chronique chez deux espèces ne permettent pas d'écarter la possibilité d'une relation entre l'immunosuppression et la formation de tumeurs.

ii) On se préoccupe d'effets nocifs possibles sur le système endocrinien à cause du mode d'action endocrinienne de ce composé chez les insectes. Une étude alimentaire de 90 jours chez le rat a mis en évidence des augmentations de la masse des surrénales et/ou des ovaires, mais aucune étude sur la reproduction n'est disponible.

iii) La documentation scientifique indique que l'huile de neem (fraction hydrophobe de l'extrait de la graine de neem) est associée à des effets nocifs sur la reproduction (activité spermicide, échec de l'implantation; utilisation de l'huile de neem à titre de contraceptif topique chez les humains).

3.2 Détermination de la dose journalière admissible

Non déterminée.

3.3 Dose de référence aiguë

Non déterminée.

3.4 Sélection du résultat toxicologique recherché pour l'estimation des risques associés à l'exposition professionnelle et occasionnelle

La toxicité aiguë de l'azatin de qualité technique à 15 % est faible par les voies d'exposition orale, cutanée ou respiratoire; de plus, ce produit est très peu irritant pour les yeux et il n'irrite ni ne sensibilise la peau. On considère que la toxicité aiguë de la formulation Neemix 4.5® est faible par voie orale, cutanée ou respiratoire, et que ce produit est modérément irritant pour les yeux et légèrement irritant pour la peau, mais qu'il ne sensibilise pas celle-ci.

En ce qui concerne l'exposition à court terme prévue pour cette application forestière, on juge qu'une étude alimentaire de 30 jours sur l'immunotoxicité chez des souris à qui on administre de l'azatin de qualité technique à 15 % est la plus pertinente pour la sélection des résultats de toxicité recherchés. Pour cette étude, on juge que l'immunotoxicité observée est le résultat recherché le plus sensible de l'ensemble de données. Le SENO est de 112 mg/kg m.c./jour, si on prend comme critère les effets sur le fonctionnement des lymphocytes T cytotoxiques. On n'a pu déterminer une valeur de DSENO. Les principaux points examinés pour cette décision sont les suivants :

- L'exposition prévue des personnes qui mélangent et qui transvasent les produits, et des pilotes, sera d'une durée moyenne (c.-à-d. de quatre à six semaines) et elle sera intermittente pendant cette période (c.-à-d. de quatre heures par jour, plusieurs jours par semaine).

- La principale voie d'exposition est par la peau. L'inhalation est une voie d'exposition mineure. Une comparaison de la toxicité après l'administration de doses par voie orale, cutanée et respiratoire (études sur la toxicité aiguë) n'a pas indiqué d'augmentation de la toxicité systémique spécifique à une voie d'exposition. Donc, en l'absence d'études sur la toxicité à court terme à la suite d'une exposition cutanée ou respiratoire, on considère qu'une étude toxicologique par la voie d'exposition alimentaire est appropriée à l'estimation des risques d'exposition professionnelle.

- L'azatin de qualité technique à 15 % et le Neemix 4.5® sont caractérisés par une faible toxicité aiguë par voie orale, et on n'observe aucune toxicité systémique significative à une dose limite de 5000 mg/kg m.c. Lors d'une étude sur la toxicité alimentaire à court terme (90 jours) chez le rat, la DSENO s'est chiffrée à 161,4 et à 32,1 mg/kg m.c./jour chez les mâles et les femelles, respectivement. On a pris pour critère l'altération des paramètres cliniques chimiques et hématologiques. On a observé des changements dans la masse d'organes à la dose supérieure de 632,4 et de 161,4 mg/kg m.c./jour chez les mâles et chez les femelles, respectivement. Cependant, on n'a pas observé de corrélation histopathologique pour ces organes.

- Les différences en fonction du sexe ne sont pas très évidentes chez le rat : chez les mâles, on observe une plus grande prolifération des canaux biliaires dans les espaces portes du foie, alors que chez les femelles, on note une augmentation de la masse du foie et de la teneur en gamma-glutamyltranspeptidase à une dose plus basse que chez les mâles.

- Chez le rat, les composés testés ne sont ni mutagènes, ni clastogènes in vivo, ni tératogènes. Cependant, les études sur l'immunotoxicité indiquent que l'extrait de neem peut avoir des effets immunotoxiques. Prenant comme critère les effets observés de suppression du fonctionnement des lymphocytes T cytotoxiques, le SENO relatif à l'immunotoxicité de l'azatin de qualité technique à 15 % est estimé à 112 mg/kg m.c./jour.

- Bien qu'on ait noté une diminution de la masse des surrénales et/ou des ovaires chez le rat après une exposition alimentaire de 90 jours, on n'a pas noté de corrélation histopathologique. Toutefois, d'après son mode d'action endocrinienne chez les insectes et à cause de l'absence d'études sur la toxicité sur le plan de la reproduction, on ne peut écarter la possibilité que ce composé exerce des effets endocriniens. On n'a observé aucun signe de neurotoxicité après une exposition par voie alimentaire, ni après une exposition par gavage à la dose limite.

Un facteur supplémentaire de 10 est recommandé, en sus du facteur de sécurité normalisé de 100, afin de tenir compte du SENO associé à l'immunotoxicité possible, et de tenir compte du fait qu'on utilise un ensemble de données du niveau I.

3.5 Incidences sur la santé humaine et animale de l'exposition au Neemix 4.5®

3.5.1 Évaluation de l'exposition des opérateurs

Le Neemix 4.5® est un concentré émulsifiable contenant 40,4 g d'azadirachtine/L ou une concentration totale de 273 g/L de matières solides de neem (y compris de l'azadirachtine). On propose son homologation pour un usage commercial restreint dans les forêts et les boisés. On doit appliquer ce produit par voie aérienne en une seule fois, entre juin et le début d'août, à une dose de 52,8 g d'azadirachtine/ha ou de 357 g/ha de matières solides totales de neem.

Étant donné que le Neemix 4.5® est un dérivé des graines du neem, il peut être contaminé par des aflatoxines jusqu'à une concentration maximale de 24 ppb.

Le Neemix 4.5® devrait être utilisé d'abord à Terre-Neuve, en Nouvelle-Écosse, au Nouveau-Brunswick et en Ontario. Même si à Terre-Neuve, l'infestation touche environ 40 000 ha, la zone à traiter serait de 4000 à 5000 ha. Le traitement se ferait en quatre à six semaines. Les pilotes peuvent traiter en moyenne environ 400 ha/jour. En supposant qu'on utilise la dose maximale, les personnes qui mélangent et qui transvasent les produits, et les pilotes, devront manipuler au total 142,8 kg de matières solides de neem par jour.

On a évalué l'exposition des personnes qui mélangent et qui transvasent les produits, et des pilotes (opérateurs) à l'aide de la version 1.1 de la Pesticide Handlers Exposition Database (PHED 1.1). Il s'agit d'une compilation de données génériques de dosimétrie passive pour les personnes qui mélangent, qui transvasent et qui appliquent les produits, combinée à des logiciels qui facilitent la production d'évaluations de l'exposition selon des scénarios définis. Ces évaluations de la PHED satisfont aux critères de qualité, de spécificité et de quantité des données prescrits par le Groupe de travail technique de l'Accord de libre-échange nord-américain sur les pesticides. L'exposition est surtout cutanée, alors que l'inhalation compte pour une petite partie de l'exposition totale. Pour les évaluations de l'exposition, on a supposé que l'absorption par voie cutanée équivaut à l'absorption par voie orale.

Pour évaluer l'exposition correspondant à chacun des scénarios d'utilisation, on a créé des sous-ensembles appropriés de données de qualité A et B à partir des fichiers de la PHED sur les personnes qui mélangent, qui transvasent et qui appliquent les produits. On a normalisé toutes ces données par kg de matière active manipulée. Les évaluations de l'exposition sont basées sur des mesures à ajustement optimal de la tendance centrale, c.-à-d. sur la totalisation, pour chaque partie du corps, des mesures de la tendance centrale qui sont les plus appropriées à la distribution des données pour cette partie du corps. Dans la PHED, les évaluations de l'exposition valent pour le port d'une seule épaisseur de vêtements, avec des gants (sauf pour les applications au sol, sans gants). On a incorporé aux évaluations un facteur de protection de 90 % pour tenir compte des combinaisons résistant aux agents chimiques portées lors du mélange et du transvasage.

Les évaluations des expositions et les marges d'exposition calculées pour les personnes qui mélangent et qui transvasent les produits, et pour les pilotes, ont donné les valeurs suivantes :

	Exposition (mg/kg m.c./jour)[a]	**Marge d'exposition basée sur un SENO de 112 mg/kg m.c./jour [b]**
Préposés au mélange et au transvasage	0,0728	1540
Pilotes	0,0213	5260

Nota : Pour les évaluations, on suppose que les personnes qui mélangent et qui transvasent les produits portent des gants et des combinaisons résistant aux agents chimiques par-dessus une épaissseur de vêtements, et que les pilotes portent une épaisseur de vêtements, sans gants.

[a] Opérateurs faisant 70 kg, profils d'utilisation typiques de l'Amérique du Nord de 400 ha/jour pour les préposés au mélange et au transvasage, et pour les pilotes. On a supposé que l'absorption cutanée équivalait à l'absorption orale.

[b] D'après une étude d'immunotoxicité chez la souris.

Ces marges d'exposition sont acceptables.

On a aussi évalué l'exposition possible aux aflatoxines à l'aide de données de la PHED en supposant que les aflatoxines avaient des caractéristiques de transfert, de dépôt et de pénétration identiques à celles de la matière active. Pour les personnes qui mélangent et

qui transvasent les produits et qui portent le même équipement de protection individuelle que celui décrit ci-dessus, l'exposition aux aflatoxines est de 0,0056 ng/kg m.c./jour, soit beaucoup moins que l'absorption d'aflatoxine de 1 à 2 ng/kg m.c./jour chez les enfants canadiens de 1 à 11 ans (le groupe d'âge susceptible d'être le plus exposé) due à la consommation d'arachides ou de beurre d'arachides. Cette évaluation est basée sur les résultats d'une étude sur la surveillance des résidus d'aflatoxine dans les noix et leurs produits, effectuée par la Direction générale de la protection de la santé (1985–1987).

3.5.2 Exposition occasionnelle

On prévoit que l'exposition occasionnelle sera faible et que les organismes de réglementation provinciaux mettront en oeuvre des mesures, par exemple la diffusion de communiqués d'intérêt public, qui permettront de réduire encore davantage les possibilités d'exposition.

3.5.3 Exposition professionnelle

Les activités post-traitement sont peu importantes en foresterie et elles sont habituellement mécanisées. Donc, un délai de sécurité après traitement n'est pas nécessaire.

4.0 Résidus

4.1 Sommaire concernant les résidus

Sans objet, ce produit n'étant pas destiné à être appliqué sur des denrées alimentaires.

5.0 Devenir et comportement dans l'environnement

5.1 Devenir et comportement dans le sol

5.1.1 Transformation dans le sol

L'azadirachtine s'hydrolyse aux pH de l'environnement. Elle est photolytiquement instable. Donc, l'hydrolyse et la phototransformation sont ses principales voies de transformation dans l'environnement. La biotransformation aérobie de l'azadirachtine dans le sol est une autre de ses voies de transformation dans l'environnement. On n'a identifié aucun produit de transformation important après l'hydrolyse, la phototransformation et la biotransformation de l'extrait de neem (annexe II, tableau 1).

L'azadirachtine est une substance non persistante à légèrement persistante dans un sol aérobie, dans des conditions de laboratoire (TD_{50} de 6 à 25 jours). Aucune étude sur la dispersion terrestre sur le terrain n'était disponible.

L'azadirachtine se transforme rapidement à la chaleur, à l'humidité, à l'air et au soleil.

5.1.2 Mobilité

Une étude sur le lessivage utilisant une colonne de 60 cm de sol forestier constitué de loam sableux a montré que l'azadirachtine n'est pas fortement liée aux particules de sol. Selon cette étude, 21 % du composé appliqué se retrouve dans la couche supérieure de la colonne de 0 à 10 cm, 44 % dans la couche suivante de 10 à 20 cm, 16 % dans la couche de 20 à 30 cm, et 8 %, dans le lessivat.

5.2 Concentration prévue dans l'environnement (sol)

En supposant une masse volumique apparente de 1,5 g/cm^3, une répartition uniforme du composé dans une couche de sol de 15 cm et une dose de 50 g m.a./ha sur le sol nu, la concentration prévue dans l'environnement (CPE), pour le sol (CPE_{sol}) de l'azadirachtine est de 0,022 mg m.a./kg.

5.3 Devenir et comportement dans l'eau

5.3.1 Transformation en milieu aquatique

L'azadirachtine s'hydrolyse aux pH présents dans l'environnement. Son taux d'hydrolyse augmente en raison directe de l'alcalinité et de la température (annexe II, tableau 2).

5.3.2 Concentrations prévues dans l'environnement (eau)

Pour un scénario forestier, la CPE du niveau I dans l'eau (CPE_{eau}) de l'azadirachtine, provenant d'une pulvérisation directe au-dessus d'une étendue d'eau (d'une profondeur de 15 cm) à la dose maximale recommandée de 50 g m.a./ha, est de 0,033 mg m.a./L. L'existence de risques, déterminée par une évaluation du niveau I, a déclenché une évaluation du niveau II où l'on a fait intervenir un taux d'interception de 50 % par le couvert forestier. On a établi ce taux d'interception en 1996, dans le cadre d'une consultation interministérielle (ministères des Pêches et Océans, de l'Environnement, des Ressources naturelles [secteur de la foresterie] et de la Santé [ARLA]).

5.4 Devenir et comportement dans l'air

On ignore la volatilité de l'azadirachtine pure. Le Neemix 4.5® a une pression de vapeur de $2,85 \times 10^2$ Pa, qui indique que ce produit est très volatil.

6.0 Effets sur les espèces non ciblées

6.1 Effets sur les espèces terrestres non ciblées

6.1.1 Organismes terrestres

L'azadirachtine est pratiquement non toxique pour le colin de Virginie et pour le rat (études sur la toxicité aiguë et alimentaire). De plus, elle est non toxique pour le canard colvert (étude sur la toxicité alimentaire) et pour les abeilles (annexe II, tableau 3).

6.1.2 Organismes aquatiques

La valeur du log K_{ow} (1,9 à 25 °C) indique que le potentiel de bioconcentration ou de bioaccumulation de l'azadirachtine dans les organismes est négligeable. Cette solution est très fortement toxique pour le poisson et fortement toxique pour *Daphnia magna* (études sur la toxicité aiguë) (annexe II, tableau 4).

6.2 Évaluation des risques pour l'environnement

On a évalué les risques de l'utilisation de l'azadirachtine pour les organismes terrestres et aquatiques à l'aide des valeurs de marge de sécurité (résultats de toxicité recherchés et CPE). Les utilisations proposées de l'azadirachtine ne posent pas de risques pour les oiseaux ou pour les mammifères sauvages parce qu'il faudra de 50 à 60 jours pour atteindre les concentrations sans effet observé (CSEO) (toxicité aiguë et alimentaire) chez les oiseaux et plus de trois jours pour que soit atteinte la CSEO (toxicité aiguë) chez les mammifères. [Le temps de dispersion à 50 % (TD_{50}) de l'azadirachtine dans le feuillage des forêts, le sol et la litière est compris entre 24 et 48 heures]. Les abeilles ne sont pas menacées parce que la DL_{50} par contact (toxicité aiguë) équivaut à une dose de 2,8 kg m.a./ha (annexe II, tableau 5). L'évaluation au niveau I des risques en milieu aquatique a indiqué que le poisson et la daphnie pourraient subir des effets nocifs (marge de sécurité inférieure à 1) (annexe II, tableaux 5 et 6); toutefois, selon une évaluation plus poussée, basée sur un taux d'interception de 50 % par le couvert forestier (déterminé par la consultation interministérielle mentionnée ci-dessus), les risques sont faibles pour ces organismes.

6.3 Atténuation des risques pour l'environnement

On a calculé la zone tampon nécessaire pour protéger les espèces aquatiques sensibles à l'aide du modèle Agdrift, qui suppose une distribution des tailles des gouttelettes fines, un taux d'interception de 50 % par le couvert forestier, une hauteur maximale de 15 m au-dessus du couvert pour les rampes de pulvérisation, et une vitesse maximale du vent de 16 km/h. Le résultat recherché sélectionné était la CSEO (toxicité aiguë) chez la truite arc-en-ciel, qui est l'espèce aquatique la plus sensible selon les données fournies. Bien que selon ce modèle, aucune zone tampon ne devrait être requise, l'ARLA a introduit un facteur de sécurité supplémentaire en exigeant une zone tampon de 50 m autour des ressources aquatiques.

7.0 Valeur

7.1 Efficacité

Insecte	Nom scientifique	Technique d'application proposée	Dose proposée	Produit proposé
Diprion du sapin	*Neodiprion abietis*	par air ou au sol	20–50 g m.a./ha	523–1307 mL/ha

On a présenté les résultats de deux essais sur l'efficacité effectués à Terre-Neuve, qui portaient sur l'application par voie aérienne et au sol de Neemix 4.5® à diverses doses pour la lutte contre le DS. En résumé, en 1996, on a appliqué du Neemix 4.5® par voie aérienne sur les larves aux deux premiers stades larvaires à la dose de 50 g m.a./ha, ce qui a réduit de façon significative les populations de DS (de 90 %) tout en assurant une certaine protection du feuillage (taux de défoliation d'arbres entiers de 63 % contre une moyenne de 82 % dans des parcelles témoins non traitées) pour des arbres à populations extrêmement élevées de DS (comptages initiaux de 50 larves par branche). Une application à une dose inférieure à la dose recommandée, soit de 10 g m.a. de Neemix 4.5®, par voie aérienne sur les larves aux deux premiers stades larvaires n'a pas entraîné une réduction significative des populations de DS, même si le taux de défoliation a été réduit. En 1999, une application au sol de Neemix 4.5® sur les larves des troisième et quatrième stades larvaires, à la dose de 45 g m.a./ha, n'a eu que peu d'effets sur la protection du feuillage ou sur la réduction des populations, peut-être à cause des fortes pluies qui ont suivi la pulvérisation. Une application au sol de Neemix 4.5® sur les larves aux troisième et quatrième stades larvaires, à une dose de 20 g m.a./ha, a réduit légèrement les populations par rapport à celles de parcelles témoins et a provoqué un effet de mue chez les larves de DS. La défoliation a cessé chez les arbres de la zone traitée.

Les données présentées sur l'efficacité confirment le libellé des étiquettes, qui préconise l'application de doses comprises entre 20 et 50 g m.a./ha. Toutefois, ces données ne permettent pas de déterminer si des doses inférieures sont aussi efficaces que la dose élevée de 50 g m.a./ha. Elles ne permettent ni d'évaluer, ni de déterminer des critères pour la sélection de la période d'application de la dose élevée, ou d'une faible dose. On recommande l'application de ce produit sur les larves du DS aux premiers stades larvaires, étant donné que les essais de 1999 sur la pulvérisation sur les larves aux troisième et quatrième stades larvaires ne semblent pas donner d'aussi bons résultats que les essais de 1996 sur les larves aux deux premiers stades larvaires. Il faudrait des données supplémentaires sur l'efficacité pour confirmer quelle est la période appropriée à l'application d'une faible dose, et pour déterminer s'il est nécessaire d'appliquer la dose élevée.

Insecte	Nom scientifique	Technique d'application proposée	Dose proposée	Produit proposé
Tenthrède à tête jaune de l'épinette	*Pikonema alaskensis*	par air ou au sol	25–50 g m.a./ha	654–1307 mL/ha

On a présenté les résultats de deux essais sur l'efficacité qui portaient sur l'application par voie aérienne et l'application au sol de Neemix 4.5® à diverses doses pour la lutte contre la TTJE. En résumé, en 1997, une application aérienne de Neemix 4.5® à 25 g m.a./ha a réduit les populations de TTJE de 66 % et la défoliation des arbres à 9,2 %, en comparaison d'applications de trichlorfon à une dose normalisée de 500 g m.a./ha, qui ont réduit les populations de TTJE de 76 % et la défoliation des arbres à 9,4 % (dans des parcelles non traitées, les taux de défoliation des arbres étaient de 32,6 et de 39,5 %, respectivement). En 1999, des applications au sol simples et doubles de Neemix 4.5® à la dose de 25 g m.a./ha n'ont donné que de faibles réductions des populations de TTJE et des taux de défoliation; toutefois, on a noté une baisse de l'alimentation dans le parcelles traitées. On a effectué les applications au sol sur des larves plus âgées (du quatrième stade larvaire), mais peut-être était-ce trop tard pour avoir un impact significatif sur les populations de TTJE.

Ces données correspondent au libellé des étiquettes, qui préconise l'application de doses comprises entre 25 et 50 g m.a./ha, et elles semblent indiquer qu'une faible dose de 25 g m.a./ha est aussi efficace qu'une dose élevée de 50 g d'azadirachtine par hectare. Il faudrait des données supplémentaires sur l'efficacité pour confirmer la période appropriée à l'application de la faible dose et pour déterminer si la dose élevée est nécessaire. L'application de ce produit sur les larves de TTJE aux premiers stades larvaires est recommandée, étant donné que les essais de pulvérisation de 1999 effectués sur les larves aux stades larvaires ultérieurs ne semblaient pas donner d'aussi bons résultats que les essais de 1997 sur les larves aux premiers stades larvaires. Pour tous ces essais, on n'a effectué qu'une pulvérisation de Neemix 4.5®; on ne sait pas si une application supplémentaire aurait amélioré l'efficacité du produit.

Insecte	Nom scientifique	Technique d'application proposée	Dose proposée	Produit proposé
Pamphile introduit du pin	*Acantholyda erythrocephala*	par air ou au sol	25–50 g m.a./ha	654 –1307 mL/ha

On a présenté les résultats d'un essai sur l'efficacité effectué en Ontario, qui portait sur l'application aérienne de Neemix 4.5® aux doses de 25 et de 50 g m.a./ha pour la lutte contre le PIP. Sur les arbres traités par pulvérisation de Neemix 4.5® à ces doses, les taux des larves mortes atteignaient 70,4 et 67,1 % 9 jours après le traitement, par rapport à 19,9 % pour les témoins non traités. Selon les estimations de la défoliation d'arbres entiers en fin de saison dans des peuplements de pins rouges, les taux de défoliation

étaient de 7,6 % pour les arbres traités à raison de 25 g m.a./ha, de 2,7 % pour ceux traités à raison de 50 g m.a./ha, et de 40 % pour des témoins non traités. Les collectes de sciure et d'excréments ont également indiqué une réduction de l'alimentation, par exemple trois semaines après le traitement; une collecte de sciure et d'excréments sous 10 arbres a donné 1,03 g de matières pour des arbres traités à 50 g m.a./ha, 2,14 g pour des arbres traités à 25 g m.a./ha et 16,24 g pour des arbres non traités. La faible dose, soit 25 g m.a./ha, semblait assurer une protection adéquate du feuillage du pin rouge. Toutefois, les données indiquent que la population de PIP dans la parcelle traitée à 25 g m.a./ha était de seulement le tiers de celle de la parcelle traitée à la dose élevée de 50 g m.a./ha. Bien que ces deux doses aient donné des résultats comparables en ce qui concerne la défoliation de pins rouges entiers (moins de 10 %, par rapport à 40 % pour les parcelles témoins non traitées), ces données ne permettent pas de déterminer si la faible dose peut assurer le même degré de protection des arbres que la dose élevée dans le cas des grandes populations de PIP.

7.2 Autres solutions possible

Pour les applications aux forêts ou aux boisés, peu de produits de lutte antiparasitaire sont homologués pour la lutte contre les diverses espèces de tenthrède. L'insecticide organophosphoré fénitrothion est homologué pour la lutte contre cet insecte; de plus, on a utilisé un autre insecticide organophosphoré, le trichlorfon, pour la lutte contre la TTJE et pour la lutte contre le DS à Terre-Neuve, grâce à une homologation d'urgence accordée en 1999. On doit noter que tous les insecticides organophosphorés font actuellement l'objet d'une réévaluation au Canada. Il n'existe pas d'autres agents biologiques ou chimiques homologués pour la lutte contre les tenthrèdes dans les forêts canadiennes.

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

L'extrait de neem est un produit naturel. Cet extrait ne satisfait pas aux critères du niveau I de la PGST visant la persistance dans le sol, l'eau et les sédiments, ou la bioaccumulation. En outre, on ne prévoit ni la présence, ni la formation, dans ce produit, de substances la voie I visées par la PGST, décrites dans l'annexe II de la directive d'homologation DIR99-03, *Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire concernant la mise en oeuvre de la Politique de gestion des substances toxiques*.

9.0 Conclusions générales et décision réglementaire

9.1 Évaluation

9.1.1 Évaluation des risques pour la santé

Le concentré de neem (contenant 4,5 % d'azadirachtine) crée un faible danger de toxicité aiguë par voie respiratoire, mais aucun danger significatif de toxicité aiguë associé aux voies orale et cutanée.

L'azatin de qualité technique à 15 % (contenant 15 % d'azadirachtine) ne pose pas de danger significatif de toxicité aiguë par voie orale, cutanée ou respiratoire. La préparation commerciale (Neemix 4.5®) est modérément irritante pour les yeux et légèrement irritante pour la peau.

L'ensemble de données du niveau I provient d'études sur la toxicité aiguë, ainsi que d'études sur la tératogénicité, sur la mutagénicité et sur l'immunotoxicité à court terme. Pour ce qui est des mammifères, on ne croit pas que le concentré de neem soit foetotoxique ou tératogène, ni que ce concentré et l'azatin de qualité technique à 15 % soient génotoxiques. Une étude à court terme portant sur le rat n'a pas révélé l'existence d'effets physiologiques importants chez des animaux de laboratoire à la dose limite de 1000 mg/kg m.c./jour. Le principal organe atteint est le foie.

On a démontré l'existence d'effets immunotoxiques lors d'une étude sur l'immunotoxicité où était pratiqué un traitement par gavage de souris femelles avec le concentré, qui a lui-même des effets sur la masse de la rate, et qui influence les résultats de l'essai de la TPH ainsi que le fonctionnement des NK. Une exposition à l'azatin de qualité technique à 15 % par la voie alimentaire supprime le fonctionnement des lymphocytes T cytotoxiques, sans effet sur aucun autre des paramètres du test d'immunotoxicité. Cette étude ne dit rien sur la viabilité des splénocytes, et il est possible que les résultats observés pour le test de le fonctionnement des lymphocytes T cytotoxiques soient associés à une diminution de la viabilité des splénocytes plutôt qu'à l'administration de la dose. Au cours des prochaines années, il faudrait effectuer des essais supplémentaires d'immunotoxicité (de niveau I), avec l'azatin de qualité technique à 15 % et le concentré, pour les utilisations forestières continues et pour tout élargissement à de nouveaux usages présentant des risques d'exposition subchronique et chronique. Les résultats des tests de niveau I permettront de déterminer si des données d'immunotoxicité du niveau II sont requises.

On a établi qu'une étude de durée moyenne sur l'immunotoxicité chez la souris serait la plus utile pour évaluer les risques professionnels pour les personnes qui mélangent ou qui transvasent ces produits, ainsi que pour les pilotes. On considère que les marges d'exposition (de 1500 à plus de 5000 fois) sont acceptables pour cette utilisation forestière proposée du Neemix 4.5®, calculée d'après des profils d'utilisation typiques de l'Amérique du Nord.

Il faudra disposer d'un ensemble complet de données toxicologiques pour ce produit avant d'envisager tout élargissement à de nouveaux usages en foresterie, ou à d'autres utilisations susceptibles d'être à l'origine d'une exposition subchronique ou chronique.

9.1.2 Évaluation des risques pour l'environnement

En appliquant une marge de sécurité (résultat de toxicité recherché et CPE), on a évalué les risques pour les organismes terrestres et aquatiques dus à l'utilisation proposée de l'azadirachtine. Celle-ci ne crée de risques ni pour les oiseaux, ni pour les mammifères sauvages parce qu'il faudra de 50 à 60 jours pour atteindre les CSEO (toxicité aiguë et alimentaire) chez les oiseaux et plus de trois jours pour atteindre la CSEO (toxicité aiguë) chez les mammifères. (Le TD_{50} de l'azadirachtine dans le feuillage des forêts, le sol et la litière est de 24 à 48 heures). Les abeilles ne courent pas de risques parce que la DL_{50} (toxicité aiguë, par contact) équivaut à celle d'une dose de 2,8 kg m.a./ha. De plus, il est peu probable que le poisson et les invertébrés aquatiques soient touchés aux doses proposées, en supposant un taux d'interception de 50 % par le couvert forestier, avec la zone tampon de 50 mètres qui procure une marge de sécurité supplémentaire pour les organismes aquatiques.

9.1.3 Évaluation de la valeur

On a présenté des données adéquates pour les essais sur l'efficacité des pulvérisations aériennes dans la lutte contre le DS, la TTJE et le PIP, afin de justifier l'homologation provisoire; toutefois, il n'a pas été possible d'obtenir une réponse claire en fonction de la dose permettant de déterminer les plus faibles doses efficaces contre les larves de la tenthrède. Il faudrait des essais supplémentaires sur l'efficacité pour déterminer les doses optimales.

Les données sur l'efficacité provenant des études avec application au sol sont inadéquates pour l'évaluation de l'efficacité (derniers stades larvaires, précipitations), et des données supplémentaires sont requises.

Ce produit est destiné aux larves des tenthrèdes qui sont aux premiers stades larvaires.

D'après le mode d'action de l'azadirachtine et d'autres sous-produits du neem présents dans la formulation, outre les réductions de population à court terme, d'autres effets sont possibles. Les auteurs des études ont noté des effets non létaux (p. ex., effets sur la mue et effets antiappétants), qui n'ont toutefois pas été quantifiés dans les études présentées.

9.2 Modification des étiquettes et recommandations

Aire d'affichage principale :

La classification de l'étiquette est : USAGE RESTREINT seulement.
Il faut ajouter les mots : MISE EN GARDE : IRRITANT POUR LES YEUX.
On doit transférer à l'aire d'affichage secondaire, à la rubrique PRÉCAUTIONS, l'énoncé GARDER HORS DE LA PORTÉE DES ENFANTS.

Aire d'affichage secondaire :

Remplacer le libellé actuel par :
GARDER HORS DE LA PORTÉE DES ENFANTS.

On doit apporter les changements suivants dans la rubrique PRÉCAUTIONS de l'étiquette :

- Lors de la manipulation du concentré et pendant le mélange, le transvasage, les opérations de nettoyage et les réparations, on doit porter l'équipement de protection individuelle suivant : combinaison résistant aux agents chimiques par-dessus une chemise à manches longues et un pantalon, gants résistant aux agents chimiques, bottes de caoutchouc, lunettes de protection et couvre-chef.

- Les pilotes doivent porter des chemises à manches longues, un pantalon, des chaussures et des chaussettes.

- Pour application aérienne aux forêts et aux boisés seulement. (Supprimer de l'étiquette toute mention d'application au sol.)

À la rubrique sur les dangers pour l'environnement, on doit lire sur l'étiquette les énoncés suivants pour le Neemix 4.5® :

- Ne pas appliquer à une hauteur des rampes de pulvérisation de plus de 15 m au-dessus du couvert végétal.

- La distance de dérive aérienne peut augmenter dans certaines conditions météorologiques. Ne pas appliquer pendant les périodes de calme plat, lorsque le vent souffle en rafales, ou si la vitesse du vent dépasse 16 km/h à l'altitude de vol.

- Pour la protection des habitats non ciblés, il faut éviter les pulvérisations hors cible, ou la dérive au-dessus d'habitats sensibles. Prévoir une zone tampon de 50 m en aval par rapport au vent, calculée à partir de l'extrémité des rampes de pulvérisation, ainsi que pour les habitats aquatiques sensibles comme les marécages, les étangs, les lacs, les cours d'eau et les lieux humides. Éviter de contaminer ces habitats lors du nettoyage et du rinçage de l'équipement de pulvérisation ou des contenants de produits.

Le mode d'emploi doit être indiqué dans un encadré formé par une ligne noire pleine, avec les usages restreints, et on doit ajouter le texte suivant :

- NATURE DE LA RESTRICTION : N'utiliser ce produit que de la façon autorisée; s'adresser aux autorités provinciales de réglementation des pesticides pour obtenir les permis d'emploi nécessaires.

- Pour application aérienne seulement.

9.3 Décision réglementaire

L'azatin de qualité technique à 15 % et le Neemix 4.5® ont obtenu une homologation provisoire applicable aux pulvérisations aériennes pour la lutte contre les tenthrèdes dans les forêts, conformément à l'article 17 du RPA, à la condition qu'on effectue les études suivantes et qu'on apporte les précisions requises :

- un formulaire révisé des spécifications du produit antiparasitaire, comportant une liste des noms communs exacts des impuretés;

- des résultats du dosage des aflatoxines de chaque lot d'azatin de qualité technique à 15 % ;

- des résultats d'essais sur l'immunotoxicité du concentré de neem et de l'azatin de qualité technique à 15 %, c'est-à-dire des essais sur l'immunotoxicité du niveau I effectués à l'aide des méthodes actuellement recommandées, suivis par des essais d'immunotoxicité du niveau II si les valeurs de déclenchement sont atteintes lors des essais du niveau I;

- des données sur l'efficacité des application au sol;

- des résultats d'essais sur l'efficacité (essais de pulvérisations aériennes opérationnelles) effectués à l'intérieur des plages de doses proposées sur l'étiquette.

Liste des abréviations

ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
CAS	Chemical Abstracts Service
CL_{50}	concentration létale à 50 %
CLHP	chromatographie liquide haute performance
CMHH	concentration moyenne de l'hémoglobine des hématies
CMM	cote moyenne maximale
CPE	concentration prévue dans l'environnement
CSEO	concentration sans effet observé
DL_{50}	dose létale à 50 %
DS	diprion du sapin
DSENO	dose sans effet nocif observé
EPA	Environnemental Protection Agency
IMI	indice maximal d'irritation
m.a.	matière active
MAQT	matière active de qualité technique
NK	cellule NK
PGST	Politique de gestion des substances toxiques
PHED	Pesticide Handlers Exposition Database (base de données sur l'exposition des manipulateurs de pesticides)
PIP	pamphile introduit du pin
ppb	parties par milliard
ppm	parties par million
RPA	*Règlement sur les produits antiparasitaires*

Annexe I Toxicologie

Tableau 1 Concentré de neem

Type d'étude	Espèces, souches et doses	DL_{50} (mg/kg m.c.) et CL_{50} (mg/L)	Degré de toxicité et effets significatifs
Toxicité aiguë			
Orale	Rat (Sprague-Dawley), 5/sexe 5000 mg/kg m.c. pureté : 4,5 % m.a.	DL_{50} >5000 mg/kg m.c.	Faible toxicité Un animal a perdu des poils, et les poumons d'un autre présentaient des tachetures irrégulières rouge foncé.
Cutanée	Lapin (New Zealand White), 5/sexe 2000 mg/kg m.c. pureté : 4,5 % m.a.	DL_{50} >2000 mg/kg m.c.	Faible toxicité Irritation cutanée, selles molles, coloration des fèces, exsudat oculaire limpide.
Respiratoire	Rat (Sprague-Dawley), 5 0,54 ou 5,33 mg/L pureté : 4,5 % m.a.	CL_{50} : 0,54-5,33 mg/L	Légère toxicité Coloration de l'urine, anomalies respiratoires, paupière(s) enflée(s), activité diminuée, pelage rugueux, aspect négligé, chute de poils.
Irritation oculaire	Lapin (New Zealand White), 2 ♂♂, 4 ♀♀ 0,1 mL, non dilué pureté : 4,5 % m.a.	Cote moyenne maximale (CMM) : 8,89 [Indice maximal d'irritation (IMI) : 11,17 à 24 h]	Légèrement irritant Opacité cornéenne (1/6) et conjonctivite (6/6), disparaissant au bout de 7–10 jours.
Irritation cutanée	Lapin (New Zealand White), 2 ♂♂, 4 ♀♀ 0,5 mL, non dilué pureté : 4,5 % m.a.	CMM : 1,04	Légèrement irritant Érythème et oedème, disparaissant au bout de 72 h.
Sensibilisation cutanée (test de Buehler)	Cobaye (Dunkin-Hartley), 20 ♂♂ pureté : 4,5 % m.a. 40 % (1re induction), 100 % (2e et 3e induction et provocation)	négatif	N'est pas un sensibilisant cutané.

Étude	Espèce et souche ou type de cellule	Dose	Effets significatifs et commentaires
Génotoxicité			
Test d'Ames	*S. typhimurium* ± S9 pureté : 2,3 % m.a.	100, 333, 667, 1000, 3330 ou 5000 µg/plaque	négatif
Mutations directes au locus thymidine kinase (in vitro)	Lymphome de souris, lignée cellulaire L5178Y, ± S9 pureté : 2,3 % m.a.	12,5–150 µg/mL	négatif
Aberrations chromosomiques structurelles in vivo (test du micronoyau)	Souris pureté : 4,5 % m.a.	1250, 2500 ou 5000 mg/kg m.c.	négatif
Étude	**Espèce (souche) et dose**	**DSENO ET SENO (mg/kg m.c.)**	**Effets significatifs à différentes doses (mg/kg m.c./j) et commentaires**
Toxicité subchronique			
Alimentaire (90 jours)	Rat (Sprague-Dawley Témoins : CD®BR VAF Plus), 10/sexe/groupe 0 ou 1000 mg/kg m.c./jour pureté : 4,5 % m.a.	SENO : 1 000 DSENO : non déterminée	1000 : ↓ masse corporelle et du gain masse corporelle (♂♂,♀♀); ↓ VGM et CMHH (♂♂); ↓ leucocytes (♀♀), ↓ lymphocytes (♀♀), ↓ monocytes (♀♀), ↑ réticulocytes (♀♀), ↓ glucose (♂♂,♀♀), ↑ cholestérol (♀♀), ↑ créatinine (♂♂,♀♀), ↓ triglycérides (♂♂,♀♀), ↑ phosphatase alcaline (♂♂,♀♀), ↓ masse organes (reins, coeur et surrénales chez les ♂♂,♀♀, et des ovaires chez les ♀♀, sans corrélation histopathologique; ↑ masse foie (♂♂,♀♀), prolifération des canaux biliaires (♂♂,♀♀).
Toxicité pour la reproduction et la croissance			
Tératogénicité	Rat (Sprague-Dawley), 25/groupe 10, 100 ou 1000 mg/kg m.c./jour par gavage, du 6e au 15e jour de la gestation pureté : 4,5 % m.a.	Mère : DSENO : 1000 Embryon ou foetus : DSENO : 1000	Aucun signe de toxicité observé jusqu'à une dose de 1000 mg/kg m.c./jour (dose la plus élevée). Non tératogène

Étude	Espèce (souche) et dose	DSENO ET SENO (mg/kg m.c.)	Effets significatifs à différentes doses (mg/kg m.c./j) et commentaires
Études spéciales (immunotoxicité)			
Gavage (30 jours)	Souris ($B_6C_3F_1$), 40 ♀♀/dose 0, 250, 500 ou 1000 mg/kg m.c./jour pureté : 4,5 % m.a. Témoins positifs : Cyclophosphamide (80 mg/kg m.c.), *N*-désacétyl-*N*-méthylcolchine (0,1 μg/mL) et interleukine-2 humaine recombinante (concentration optimale)	SENO : 250 DSENO : non déterminée	≥250 : ↓ gain masse corporelle, ↓ consommation alimentaire, ↓ absorption d'eau, ↓ masse rate, ↓ cellules formant les anticorps IgM en réponse aux hématies du mouton, ↓ activité de base des cellules NK 1000 : ↓ numération des thrombocytes, ↓ fonctionnement des cellules NK (IL-2) augmenté.

Tableau 2 Azatin de qualité technique à 15 % et Neemix 4.5®

Type d'étude	Espèce, souche, et dose	DL_{50} (mg/kg m.c.) et CL_{50} (mg/L)	Degré de toxicité et effets significatifs
Toxicité aiguë pour l'azatin de qualité technique à 15 %			
Orale	Rat (Sprague-Dawley) 5/sexe 5000 mg/kg m.c. pureté : non indiquée	DL_{50} > 5000 mg/kg m.c.	Faible toxicité Léthargie, posture recroquevillée
Cutanée	Lapin (New Zealand White); 5/sexe 2000 mg/kg m.c. pureté : non indiquée	DL_{50} > 2000 mg/kg m.c.	Faible toxicité Irritation cutanée, diarrhée passagère
Respiratoire	Rat (Sprague-Dawley) 2,41 mg/L (4 h) pureté : non indiquée	CL_{50} > 2,41 mg/L	Faible toxicité Exsudat nasal limpide, salivation, rougeur autour des yeux et râles, respiration par la bouche, respiration sifflante.
Irritation oculaire	Lapin (New Zealand White), 3/sexe 0,1 g, non dilué pureté : 8,65 % m.a.	CMM : 2,2	Très peu irritant Pas d'opacité cornéenne, iritis (2/6) après 1 h seulement, érythème et chémosis (6/6), disparaissant vers le 2^e ou le 3^e jour.
Irritation cutanée	Lapin (New Zealand White), 3/sexe 0,5 g, non dilué pureté : 8,6 % m.a.	CMM : 0	Non irritant

Type d'étude	Espèce, souche, et dose	DL_{50} (mg/kg m.c.) et CL_{50} (mg/L)	Degré de toxicité et effets significatifs
Sensibilisation cutanée (test de Buehler)	Cobaye (Hartley), 10 ♂♂/groupe pureté : 19,2 % m.a. 25 % (induction), 0,5 % (provocation)	négatif	N'est pas un sensibilisant cutané.
Toxicité aiguë du Neemix 4.5[a]			
Orale	Rat (Sprague-Dawley), 5/sexe 5000 mg/kg m.c.	DL_{50} > 5000 mg/kg m.c.	Faible toxicité Cas temporaires de râles, de coloration de l'urine, de pelage rugueux, de matières foncées autour de la zone des déjections fécales.
Cutanée	Lapin (New Zealand White), 5/sexe 2000 mg/kg m.c.	DL_{50} > 2000 mg/kg m.c.	Faible toxicité Cas temporaires de coloration fécale et de matières foncées autour de la zone des déjections fécales.
Respiratoire	Rat (Sprague-Dawley), 5/sexe 2,05 mg/L (4 h)	CL_{50} > 2,05 mg/L	Faible toxicité Anomalies respiratoires, ↓ défécation, démarche chancelante, ↓ activité, horripilation, larmoiement, coloration de l'urine et matières foncées autour de la zone des déjections fécales.
Irritation oculaire	Lapin (New Zealand White), 6 ♀♀ 0,1 mL, non dilué	CMM : 23,89 (IMI : 39 après 1 h chez un animal)	Modérément irritant Opacité cornéenne (4/6) à 24 h, disparaissant vers le 10e jour.
Irritation cutanée	Lapin (New Zealand White), 1 ♂ et 5 ♀♀ 0,5 mL, non dilué	CMM : 1,71	Légèrement irritant Érythème très léger à léger (6/6), disparaissant vers le 7e jour.
Sensibilisation cutanée (test de Buehler)	Cobaye (Hartley albinos), 5/sexe/groupe 25, 50, 75 ou 100 % (induction et provocation)	négatif	N'est pas un sensibilisant cutané.
Étude	**Espèce, souche ou type de cellule**	**Dose utilisée**	**Effets significatifs et commentaires**
Génotoxicité			
Test d'Ames	*S. typhimurium* ± S9 (pureté : 8,6 % m.a.)	5, 1, 0,5, 0,05, ou 0,005 mg/plaque	négatif

Étude	Espèce, souche et doses	DSENO ou SENO (mg/kg m.c./j)	Effets significatifs à différentes doses (mg/kg m.c./j) et commentaires
Toxicité subchronique			
Alimentaire (90 jours)	Rat (Sprague-Dawley témoin : CD®BR VAF Plus), 10/sexe/groupe 0, 500, 2500 ou 10 000 ppm (0, 32,1, 161,4 ou 632,4 mg/kg m.c./jour) pureté : 7,74 % m.a.	SENO : 632 (♂♂) 161 (♀♀) DSENO :161 (♂♂) 32 (♀♀)	161,4 : ↓ gamma-glutamyl transpeptidase (♀♀), ↑ masse foie (♀♀) 632 : ↓ masse corporelle, gain masse corporelle et consommation alimentaire (♂♂,♀♀); ↓ VGM, CMHH et CMHHC (♂♂); ↓ hémoglobine, hématocrite et VGM (♀♀); ↑ azote uréique du sang (♂♂), ↑ gamma-glutamyl transpeptidase (♂♂,♀♀), ↑ créatinine (♀♀), ↑ masse foie (♂♂,♀♀) et ↓ masse ovaires (♀♀), sans corrélation histopathologique.
Études spéciales (immunotoxicité)			
Alimentaire (30 jours)	Souris ($B_6C_3F_1$), 40 ♀♀/dose 0, 500, 1250 ou 5000 ppm (0, 112, 295 ou 1100 mg/kg m.c./jour) pureté : 7,74 % m.a. témoins positifs : Cyclophosphamide (80 mg/kg m.c.), *N*-désacétyl-*N*-méthylcolchine (0,1 μg/mL) et interleukine-2 recombinante humaine (concentration optimale)	Immunotoxicité SENO : 112 DSENO : non déterminée	≥112 : ↓ fonctionnement des lymphocytes T cytotoxiques 1100 : ↓ gain masse corporelle, probablement due à la palatabilité, ↓ numération des thrombocytes.

Annexe II Évaluation des risques pour l'environnement

Tableau 1 Sommaire des données sur le devenir et les transformations en milieu terrestre

Processus	Résultat recherché	Commentaires
Hydrolyse	$t_{½}$ à 20 °C pH 4 19 jours pH 7 13 jours pH 10 2 h	Solutions tamponnées. L'hydrolyse est fortement influencée par le pH dans l'ordre : pH 10>>pH7>pH4, L'hydrolyse est l'une des principales voies de transformation à pH neutre et basique.
	$t_{½}$ à 20 °C pH 8 ± 0,5 7 jours	Eau d'étang. L'hydrolyse est l'une des voies de transformation à pH neutre.
	$t_{½}$ à 35 °C pH 5 11,5 jours pH 7 2,4 jours pH 8 0,5 jour	Solutions tamponnées. L'hydrolyse est l'une des principales voies de transformation à pH neutre et basique. À 25 °C et à pH 7, $t_{½}$ était de 11 jours; l'hydrolyse de l'azadirachtine est fortement influencée par la température.
	$t_{½}$ à 35 °C pH 6,2 21 jours pH 7,3 2 jours pH 8 0,5 jour	Eaux naturelles. L'hydrolyse est l'une des principales voies de transformation à pH neutre et basique.
Phototransformation	$t_{½}$ 7 jours	Étude effectuée avec des plantes. La phototransformation est l'une des principales voies de transformation.
Biotransformation aérobie	TD_{50} 26 jours à 22 °C	Étude en serre sur du sol de pépinière. La biotransformation aérobie est l'une des voies de transformation.
	TD_{50} 6 jours	Étude effectuée avec du Margosan O (0,25 % azadirachtine). Cette étude combine la biotransformation et le lessivage; pour cette raison, la méthodologie n'était pas conforme à la Circulaire à la profession T-1-255, *Guide de chimie et de devenir des pesticides dans l'environnement.*
Biotransformation anaérobie	Pas de données disponibles.	
Adsorption ou désorption	K_{oc} 5,1–7,9	L'azadirachtine a une grande mobilité dans le loam sableux des forêts.
Lessivage sur une colonne de sol	21 % dans 0–10 cm 44 % dans 10–20 cm 16 % dans 20–30 cm 8 % dans le lessivat	L'azadirachtine peut être lessivée dans le loam sableux.
CPE dans le sol	0,022 mg m.a./kg sol sec	

Tableau 2 Sommaire des données sur le devenir et les transformations en milieu aquatique

Processus	Résultat recherché	Commentaires
Hydrolyse	$t_{½}$ à 20 °C pH 4 19 jours pH 7 13 jours pH 10 2 h	Solutions tamponnées. L'hydrolyse est fortement influencée par le pH dans l'ordre : pH 10 >> pH7 > pH4. L'hydrolyse est l'une des principales voies de transformation à pH neutre et basique.
	$t_{½}$ à 20 °C pH 8 ± 0,5 7 jours	Eau d'étang. L'hydrolyse est l'une des voies de transformation à pH neutre.
	$t_{½}$ à 35 °C pH 5 11,5 jours pH 7 2,4 jours pH 8 0,5 jour	Solutions tamponnées. L'hydrolyse est l'une des principales voies de transformation à pH neutre et basique. À 25 °C et à pH 7, le $t_{½}$ était de 11 jours; l'hydrolyse de l'azadirachtine est fortement influencée par la température,
	$t_{½}$ à 35 °C pH 6,2 21 jours pH 7,3 2 jours pH 8 0,5 jour	Eaux naturelles. L'hydrolyse est l'une des principales voies de transformation à pH neutre et basique.
Phototransformation	Pas de données disponibles.	
Biotransformation aérobie	Pas de données disponibles.	
Biotransformation anaérobie	Pas de données disponibles.	
CPE dans l'eau (niveau I, pulvérisation directe hors cible).	0,033 mg m.a./L	Utilisations forestières

Tableau 3 Sommaire des données sur la toxicité de l'azadirachtine pour les organismes terrestres

Groupe	Organisme	Étude	CSEO	DL_{50} et CL_{50}	Degré de toxicité
Oiseaux	Colin de Virginie	orale aiguë	29,2 mg m.a./kg m.c.	DL_{50} > 225 mg m.a./kg m.c.	modéré
	Colin de Virginie	orale aiguë	477 mg m.a./kg régime alimentaire	CL_{50} > 477 mg m.a./kg régime alimentaire	modéré
	Colin de Virginie	alimentaire	1111 mg m.a./kg régime alimentaire	CL_{50} > 1111 mg m.a./kg régime alimentaire	léger
	Colin de Virginie	alimentaire	316 mg m.a./kg régime alimentaire	CL_{50} > 562 mg m.a./kg régime alimentaire	modéré
	Canard colvert	alimentaire	278 mg m.a./kg régime alimentaire	CL_{50} > 1111 mg m.a./kg régime alimentaire	léger
Mammifères	Rat	orale aiguë		DL_{50} > 5000 mg azatin/kg m.c.	aucun
	Rat	orale aiguë		DL_{50} > 5000 mg Neemix/kg m.c.	aucun
	Rat	90 jours, alimentaire (m.a. : 7,74 %)	SENO : 632 mg azatin/kg m.c./jour (♂♂) 161 mg azatin/kg m.c./jour (♀♀) DSENO : 161 mg azatin/kg m.c./jour (♂♂) 32 mg azatin/kg m.c./jour (♀♀)		
	Souris	30 jours (m.a. : 7,74 %)	SENO : 112 mg azatin/kg m.c./jour(♀♀)		possibilité d'effets immunotoxiques
Organismes du sol	Lombric	aiguë		0,0264 kg m.a./ha (des applications sur le terrain n'ont eu aucun effet sur la population.)	
Prédateurs et parasites	Abeille	toxicité aiguë, par contact		DL_{50} > 2,5 μg m.a./abeille	modéré

Tableau 4 Sommaire des données sur la toxicité de l'azadirachtine pour les organismes aquatiques

Groupe	Organisme	Étude	CSEO (mg m.a./L)	CL_{50} (mg m.a./L)	Degré de toxicité
Poissons	Truite arc-en-ciel	aiguë	0,016	0,048	très élevé
	Crapet arlequin	aiguë	0,06	0,11	élevé
Invertébrés	Cladocère	aiguë	0,13	1	élevé
	Cladocère	aiguë	0,03	0,039	très élevé

Tableau 5 Sommaire des risques pour les organismes terrestres

Organisme	Effet	Résultat recherché pour la toxicité	CPE	Marge de sécurité	Risque	Mesures correctives
Colin de Virginie	orale aiguë	CSEO : 29,2 mg m.a./kg m.c.	6 mg m.a./kg masse sèche	60 jours	aucun risque	non requises
Colin de Virginie	alimentaire	CSEO : 316 mg m.a./kg régime alimentaire	6 mg m.a./kg masse sèche	52,7	aucun risque	non requises
Canard colvert	alimentaire	CSEO : 278 mg m.a./kg m.c.	1,7 mg m.a./kg masse sèche	164	aucun risque	non requises
Rat	orale aiguë	DL_{50} > 5000 mg Neemix 4.5*/kg m.c. (c.-à-d., >1111 mg m.a./kg m.c.)	25,2 mg m.a./kg masse sèche	>3,3 jours	aucun risque	non requises
Lombric	aiguë	0,0264 kg m.a./ha (des applications sur le terrain n'ont eu aucun effet sur la population.)	0,022 mg m.a./kg		aucun risque	non requises
Abeille	aiguë, par contact	DL_{50} > 2,5 μg m.a./abeille ou 2,8 kg m.a./ha*	50 g m.a./ha		aucun risque	non requises

* On convertit la valeur en μg/abeille à la valeur en g/ha en la multipliant par un facteur de 1,12.

Tableau 6 Sommaire de l'évaluation des risques de niveau I pour les organismes aquatiques

Organisme	Effet	CSEO (mg m.a./L)	CPE (mg m.a./L)	Marge de sécurité	Risque
Cladocère	aiguë	0,03	0,033	0,9	risque*
Truite arc-en-ciel	aiguë	0,016	0,033	0,4	risque*

* Une évaluation de niveau II est déclenchée.